UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1949 N° 84

La Culture du Gonocoque

appliquée au diagnostic

DE LA BLENNORRAGIE FÉMININE

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juillet 1949

PAR

Jean QUERCY

INTERNE DES HOPITAUX

Membres du Jury	MM. NANTA.....	*Président*
	ANDRIEU....	*Assesseurs*
	GADRAT.....	
	BAZEX.....	
	LAPORTE.....	*Suppléant*

TOULOUSE

IMPRIMERIE P. JULIA, 2, RUE TEMPONIÈRES

—

1949

Jean QUERCY
La Culture du Gonocoque
appliquée au diagnostic
de la Blennorragie Féminine

Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1949, in-8° (118 pages).

(*Thèse Médecine, Toulouse,* n° 84)

Jean QUERCY
La Culture du Gonocoque
appliquée au diagnostic
de la Blennorragie Féminine

Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1949, in-8° (118 pages).

(*Thèse Médecine, Toulouse,* n° 84)

Jean QUERCY
La Culture de Gonocoque
appliquée au diagnostic
de la Blennorragie Féminine

Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1949, in-8° (118 pages).

(*Thèse Médecine, Toulouse,* n° 84)

Jean QUERCY
La Culture du Gonocoque
appliquée au diagnostic
de la Blennorragie Féminine

Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1949, in-8° (118 pages).

(*Thèse Médecine, Toulouse,* n° 84)

La Culture du Gonocoque appliquée au diagnostic de la Blennorragie féminine

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1949 N° 84

La Culture du Gonocoque

appliquée au diagnostic

DE LA BLENNORRAGIE FÉMININE

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juillet 1949

PAR

Jean QUERCY

INTERNE DES HOPITAUX

Membres du Jury

MM. NANTA ..... *Président*

ANDRIEU .... } *Assesseurs*

GADRAT..... }

BAZEX ..... }

LAPORTE..... *Suppléant*

TOULOUSE

IMPRIMERIE P. JULIA, 2, RUE TEMPONIÈRES

1949

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN	MM. LEFEBVRE.
ASSESSEUR	BRUSTIER.
Doyens honoraires	GORSE — CALVET.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ARGAUD	MM. RISPAL	MM. MERIEL	MM. RIBAUT.
CLERMONT	LAFFORGUE	GARIPUY	SERR.

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et de psychiatrie	MM. RISER.
Clinique médicale	TAPIE (J.), ROQUES.
Clinique obstétricale	GUILHEM.
Physiologie	SOULA.
Clinique chirurgicale et du Cancer	DUCUING.
Physique biologique et médicale	BUGNARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	NANTA.
Chimie et Toxicologie	BRUSTIER.
Pathologie générale et médecine expérimentale	SENDRAIL.
Clinique chirurgicale et gynécologie	LEFEBVRE.
Anatomie	VALLOIS. LAZORTHES.
Histoire naturelle	DELAS.
Clinique médicale infantile et puériculture	SOREL. R.
Pharmacie	CAUJOLLE.
Pathologie interne. et Clinique des Maladies de la Tuberculose	MOREL.
Bactériologie, hygiène, médecine sociale	ANDRIEU.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	VIRENQUE.
Clinique des maladies des voies urinaires	FABRE (P.).
Matière médicale	VINCENT.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	MERIEL
Anatomie pathologique	FABRE (J.).
Clinique O. R. L. et de chirurgie maxillo-faciale	CALVET.
Clinique ophtalmologique	CALMETTES.
Chimie biologique	VALDIGUIÉ (P.)
Médecine légale et du Travail	PLANQUES.
Histologie et Embryologie	BROUSSY.
Médecine Sociale	BOUNHOURE.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie	BAISSET.
Anatomie	COULOUMA.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Anatomie	MM. POULHÈS ch. de f.
Histologie	BIMES, ch. de f.
Médecine	GADRAT, DARNAUD, GERAUD, DARDENNE, LAPORTE (J.)
Chirurgie	GRIMOUD, RIEUNAU, DIEULAFE, DAMBRIN (P.).
Obstétrique	PONTONNIER ch. de f.
Odonto-Stomatologie	CADENAT.
Ophtalmologie	DEODATI.
Physique médicale	MARQUÈS.
Pharmacie	COUTURIER.
Chimie générale pharmaceutique	BLANC.
Histoire naturelle pharmaceutique	Mme DULUCQ-MATHOU.

COURS COMPLÉMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes	MM. GUILHEM.
Cours d'anatomie physiologique et pathologie élémentaire aux élèves sages-femmes	GUILHEM.
Chimie biologique	VALDIGUIÉ (P.).
Chimie minérale	BLANC.
Physique pharmaceutique	AUVERGNAT.
Dermatologie et Syphiligraphie	BAZEX.
Législation pharmaceutique	BOUISSET.
Microbiologie	BOUISSET.
Clinique de la Tuberculose	MOREL L. DAMBRIN (P.)
Parasitologie	LASSERRE.
Botanique et Cryptogamie	Mme DULUCQ-MATHOU.
Chimie analytique	MM. BLANC.
Hydrologie et géologie	ASTRE.
Anatomie médico-chirurgicale	THOMAS.
Pharmacodynamie	BAISSET.
Bactérioologie et Hygiène	LAPORTE.
Urologie	LHEZ.
Ophtalmologie	DEODATI.
Neuro-chirurgie	LAZORTHES.
Oto-Rhino-Laryngol	CLAUX.
Secrétaire de la Faculté	ARGILAS.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.

(Délibération en date du 12 mai 1891.)

A MA FEMME

A MES FILLES

A MES PARENTS

A LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE

LE DOCTEUR P. VALAT

A TOUS LES MIENS

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR NANTA

Professeur de Clinique des Maladies Cutanées et Syphilitiques.

Vous nous avez fait le grand honneur de nous accepter comme élève. Veuillez trouver, en tête de ce travail, l'expression de notre reconnaissance et de notre respectueux attachement.

A NOTRE MAITRE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRIEU

Professeur de Bactériologie, Hygiène et Médecine Sociale.

Vous nous avez ouvert les portes de votre laboratoire et témoigné toujours le plus bienveillant intérêt. Nous voudrions vous exprimer ici toute notre profonde gratitude.

A NOTRE JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE GADRAT

Médecin des Hôpitaux.

Vous nous avez depuis longtemps aidé de vos précieux conseils. Veuillez accepter le témoignage de notre sincère reconnaissance.

MONSIEUR LE DOCTEUR BAZEX

Chargé de Cours à la Faculté.

Votre grande expérience nous guide journellement dans la connaissance de la dermatologie. Soyez-en vivement remercié.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE LAPORTE

Nous gardons de votre enseignement un souvenir reconnaissant.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX

A MADAME LE PROFESSEUR AGREGE ENJALBERT

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. AVERSENQ

Chef de Travaux de Bactériologie.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LEVRAT

Assistant de Bactériologie.

A NOS CHEFS DE CONFERENCES D'EXTERNAT
ET D'INTERNAT

A NOTRE AMI MONSIEUR LE DOCTEUR MONNIER

A NOTRE AMI MONSIEUR LE DOCTEUR J.-N. BOLTE

A NOS CAMARADES D'INTERNAT

Introduction

L'exercice de la dermato-vénéréologie, auquel nous nous initions sous la direction de notre Maître, Monsieur le Professeur Nanta, nécessite fréquemment de recourir à l'appui des deux sciences fondamentales que sont l'anatomie-pathologique, et la bactériologie.

Il ne nous a pas été possible, dans le courant de nos études, de nous familiariser, comme nous l'aurions voulu, avec la première de ces disciplines. Par contre, nous avons pu travailler à la Faculté, dans le laboratoire de bactériologie de Monsieur le Professeur Andrieu. C'est pourquoi, notre Maître, choisissant un point de clinique à incidence microbiologique, voulut bien nous conseiller de revenir sur une question qui a déjà suscité de nombreux travaux, mais qui connait un regain d'actualité, la culture du gonocoque et spécialement son application au diagnostic de la blennorragie féminine.

Ce dernier reste, en effet, d'une particulière difficulté. Les cas aigus, à caractères cliniques nets, aisément reconnaissables sont en effet tout à fait exceptionnels. La blennorragie de la femme est, au contraire, subaiguë, traînante et sans physionomie particulière qui permette de la reconnaître. Il faut, pour la diagnostiquer, mettre en évidence le gonocoque, mais c'est chose difficile. Ces formes chroniques sont en effet paucimicrobiennes et les germes, rares, sont perdus au milieu de microbes secondaires dont certains sont tout à fait semblables. C'est ce qui explique que l'examen des étalements reste presque toujours infructueux, alors que des contaminations souvent nombreuses apportent la preuve de la présence du gonocoque.

Pour mettre en évidence celui-ci, qui échappe si souvent à l'examen direct, de nombreux chercheurs ont depuis longtemps essayé de le cultiver. Malheureusement il est fragile et exigeant,

alors que les germes secondaires sont résistants et poussent facilement. Ces conditions expliquent les échecs répétés de la recherche du gonocoque par culture, soit qu'il ne pousse pas, soit qu'on ne l'identifie pas au milieu de tous les contaminants qui l'entourent.

La culture du gonocoque donc, malgré sa valeur de principe indiscutable, était restée une méthode qui ne pouvait pas entrer dans la pratique en raison de son extrême difficulté et du peu de résultat qu'elle apportait.

Cependant, au cours des dernières années, les chercheurs ont réussi, après des améliorations successives, à mettre au point toute une série de milieux où le gonocoque pousse facilement. Quant à l'identification, qui est la deuxième difficulté à laquelle se heurtait la méthode des cultures, elle est maintenant rendue facile par une réaction d'oxydase qui fut découverte en 1910, mais oubliée jusqu'en 1928.

Depuis cette date son application à la clinique s'est lentement étendue mais n'a pris une réelle importance que pendant les années de guerre dans les pays anglo-saxons.

En France, la méthode des cultures était restée discréditée par le peu de valeur des anciens procédés.

Nous avons voulu, en profitant de toutes les acquisitions récentes, voir s'il n'était pas possible de modifier cette opinion et c'est ce qui a donné lieu au travail que nous présentons aujourd'hui.

La préoccupation essentielle qui nous a guidé dans son accomplissement, a été d'apporter au vénéréologiste une technique commode et satisfaisante qui puisse facilement entrer dans la pratique habituelle.

C'est pourquoi la partie la plus importante de notre travail s'est effectuée après des malades de la clinique des maladies cutanées et syphilitiques du Professeur Nanta.

La mise au point et la fabrication des milieux ont été réalisées au laboratoire de la chaire de bactériologie et d'hygiène du Professeur Andrieu, et nous tenons à remercier tout particulièrement ici Monsieur le Professeur Bugnard, Directeur de l'Institut National d'Hygiène, pour l'aide matérielle qu'il a bien voulu nous apporter dans cette partie de notre tâche.

Notre travail, que nous n'alourdirons pas par un historique de peu d'intérêt pratique, sera divisé en deux grandes parties.

Dans la PREMIERE PARTIE nous ferons une revue schématique de la *bactériologie du gonocoque* en insistant plus particulièrement sur son identification par la réaction d'oxydase et sur les problèmes de sa culture : composition des milieux et conditions physiques générales.

A la fin de cette partie nous rapporterons les recherches que nous avons faites pour choisir et fabriquer nos milieux et les résultats que nous avons obtenus.

Dans une DEUXIEME PARTIE, clinique, nous traiterons du *diagnostic de la blennorragie chez la femme* en envisageant d'abord les moyens jusqu'ici mis en œuvre pour y parvenir et ensuite la méthode des cultures par les procédés actuels.

Nous rapporterons enfin, les résultats que nous avons obtenus par l'application de cette méthode à la clinique.

PREMIÈRE PARTIE

Etude Bactériologique du Gonocoque

(NEISSERIA GONORRHOEAE TREVISAN*)*

CHAPITRE PREMIER

Morphologie - Coloration

Le gonocoque se présente *dans les produits pathologiques* sous la forme bien connue d'un diplocoque gram-négatif classiquement comparé à un grain de café. Bien que la description de ce germe se trouve dans tous les livres de bactériologie nous avons jugé indispensable d'exposer en détail ses caractères morphologiques et tinctoriaux en raison de leur importance majeure dans l'identification du gonocoque.

Le diplocoque que NEISSER découvrit en 1879, est composé de deux éléments, légèrement plus longs que larges, ovalaires, qui sont opposés par leurs faces planes, délimitant entre eux un espace clair relativement large et, en général, bien visible, sauf dans les cas où, le germe, ayant subi une rotation, se présente de champ à l'observateur. Si on regarde le germe à un fort grossissement, on s'aperçoit que les éléments du diplocoque ne sont pas ovalaires, mais légèrement réniformes et que les deux concavités qui se font face déterminent un espace qui est plus important à sa partie centrale qu'aux extrémités, c'est l'encoche d'ESCHBAUM.

Les dimensions du gonocoque, étudiées par JANET, varient

entre les limites de 0 μ 8 à 1 μ 6 pour la longueur et de 0 μ 6 à 0 μ 8 pour la largeur, ces chiffres valant pour chaque élément du diplocoque. L'espace clair médian est environ de 0 μ 3 à 0 μ 4. Enfin, il est possible que les deux éléments constitutifs soient de taille inégale, l'un étant plus grand que l'autre. Janet a prétendu que les gonocoques trouvés dans les blennorragies féminines étaient plus grands que ceux des écoulements masculins.

Le germe prend bien les colorants usuels, il fixe aisément les colorants basiques et en particulier le bleu de Löffler, le bleu phéniqué, le bleu de méthylène et la thionine phéniquée. Ce sont ces colorations simples qui donnent les images les plus nettes et permettent l'étude précise de la morphologie. Elles sont cependant insuffisantes à elles seules et il est nécessaire de pratiquer dans tous les cas la coloration de Gram. Le gonocoque, en effet, est décoloré par l'alcool et se présente en rouge après la recoloration. C'est un germe gram-négatif, et cette propriété, qui a donné lieu à d'ardentes controverses, est un caractère primordial du gonocoque.

Le diplocoque de Neisser ne se présente que rarement à l'état isolé. En règle générale, on trouve sur les frottis des groupements de quelques germes qui forment des agglomérations régulières, compactes, où chaque microbe reste cependant nettement séparé de ses voisins par un intervalle clair, très net et de dimensions constantes.

Il y a enfin un dernier renseignement que l'on peut encore tirer de l'examen des lames, c'est la situation du gonocoque. Ce germe est en effet très fréquemment *intra-leucocytaire*. La démonstration en fut fournie par Bumm et Leistikow. Les images de polynucléaires, bourrés d'amas microbiens, parfois jusqu'à éclatement, sont absolument caractéristiques. Certains auteurs, Bockart, Haas, Kieffer, Foulerton, ont même prétendu que le gonocoque pouvait être intranucléaire, mais cette opinion n'est généralement pas admise. Le germe semble être dans le noyau alors qu'il est simplement plaqué contre lui.

Dans les frottis d'écoulements blennorragiques, le germe extra-cellulaire, et mieux encore le germe intra-cellulaire, apparaît entouré par un halo clair, particulièrement visible lorsque le gonocoque se détache sur le noyau de la cellule. Cet aspect, joint

à celui des amas microbiens, où les germes ne sont jamais au contact, mais séparés par un espace de dimensions constantes, a fait admettre par certains que le gonocoque présentait une capsule.

Cette question n'a jamais été clairement résolue, bien que les auteurs classiques considèrent que l'aspect, plus haut décrit, ne corresponde pas à une capsule véritable.

Les travaux modernes ont montré, par des méthodes histochimiques délicates, qu'on peut, comme chez toutes les bactéries, localiser l'*acide désoxyribonucléique* dans un organite figurant le *noyau* de la plastide microbienne. On trouve ainsi un noyau dans chaque élément du diplocoque. Lors de la division du germe, chaque noyau et chaque élément correspondant se divise en deux pour donner un nouveau diplocoque dont la fente médiane est perpendiculaire à celle du germe souche. On obtient ainsi une image finale de deux diplocoques alignés, avec parfois un aspect intermédiaire en forme de B lorsqu'un seul élément s'est divisé. Ces aspects de division et la notion, d'acquisition récente, d'un noyau dans chaque élément constitutif du gonocoque posent la question de l'unité microbienne. Faut-il considérer qu'un germe est représenté par le diplocoque dans son entier, ou bien simplement par un des deux éléments ? C'est là une question qui n'est pas encore résolue.

Le *gonocoque en culture* ne se présente pas tout à fait avec les mêmes caractères morphologiques et tinctoriaux que dans les produits pathologiques. Certes, sur une émulsion microbienne, examinée sur lame, la majorité des germes est bien constituée par des diplocoques gram-négatifs, d'ailleurs sans capsule, mais, dès le premier coup d'œil, on est frappé par l'irrégularité des éléments entre eux et cet aspect est caractéristique des germes du genre *Neisseria* en culture.

Giscard (37), dans sa thèse, a bien décrit ces variations de forme et il a montré l'existence de diplocoques de grandes dimensions, de diplocoques dont les éléments sont inégaux, et de gonocoques réduits à un seul coccus sphérique, en général de grande taille. Ces travaux ont été repris et confirmés par les thèses de Barbellion (4) et de Sohrab (94). Les affinités tinctoriales sont également variables et à côté de formes très pâles

on observe des formes hypercolorées, en général de grande taille.

Pour Giscard les formes pâles seraient des germes en voie de lyse. C'est aussi l'opinion de Mademoiselle Le Soudier et J. Vergé (65) qui observent également dans ce cas de gros cocci arrondis et vacuolaires. A l'opposé, les formes hypercolorées seraient des formes de résistance et se grouperaient souvent en tétrade selon Salimbeni.

Cette question des variations morphologiques et tinctoriales du gonocoque a été à l'ordre du jour entre les années 1925-1935, après qu'Hauduroy eût mis l'accent sur le polymorphisme microbien. On décrivit alors toutes les variations possibles que nous ne ferons que citer car elles ne sont plus admises aujourd'hui et sont bien tombées dans l'oubli.

Asch (1-3) distingua des *microgonocoques*, des *normogonocoques* en forme de cocci ellipsoïdes sans encoche médiane et des *macrogonocoques* qui, selon Glück, pouvaient atteindre la taille d'un noyau de polynucléaire.

Lawrinowicz (61), Levine et Fink (66), Ramsine et Milochevitch, Herrold (44), Sohrab (94) décrivirent des formes *bacillaires*, des formes *en massue*, des formes en *croisillon*, en *point d'exclamation* et jusqu'à des formes en *vibrion*.

Parallèlement à ces variations morphologiques, qui étaient le fait de formes dégénérées ou involutives, on admit des variations tinctoriales et les mêmes auteurs écrivirent tous que ces formes anormales étaient, le plus souvent, gram-positives.

En raison de leur exagération, ces opinions provoquèrent une réaction et Barbellion (4), notamment, défendit avec opiniâtreté la position classique que nous avons exposée.

Ces derniers temps, où la culture du gonocoque revient à l'ordre du jour, Bonnefoi, Grabar et Le Minor (11) s'affirment partisans d'une certaine fixité dans les caractères de ce germe qu'ils ont vu exceptionnellement prendre une forme bacillaire, mais jamais devenir gram-positif.

Que penser de ces opinions ? S'il est impossible de trancher le problème, il semble qu'on puisse, en tout cas, séparer deux aspects, bien différents, de la question. Un aspect théorique tout d'abord. En effet, toutes les variations exposées plus haut furent

décrites par des hommes de laboratoire qui soumirent les souches qu'ils observaient à des conditions très éloignées de la normale en faisatn varier la constitution du milieu, la température de l'incubation et la durée séparant les repiquages. On peut donc dire qu'il s'agit là d'acrobaties de laboratoire qui intéressent fort peu le clinicien.

Par contre, il existe un aspect pratique, important à considérer pour le médecin. En effet, certains auteurs, comme Asch, ou comme Franck, voulurent appliquer directement à la clinique ces données de laboratoire et admirent l'existence de formes bacillaires et de formes gram-positives comme agents de la blennorragie. Ces opinions introduisirent une grande confusion dans les esprits et furent combattues par la quasi-totalité des médecins; elles ne sont plus guère soutenues à l'heure actuelle.

Par contre, une question nouvelle est venue se poser, c'est celle de l'influence des antibiotiques sur la morphologie du gonocoque au cours du traitement de la blennorragie.

Avec les sulfamides on a décrit les formes de dégénérescence qui avaient été vues au cours des anciens traitements locaux : diminution de l'affinité tinctoriale, contours flous, encoche centrale peu nette, gonflement, l'ensemble de ces modifications méritant le nom *d'ombre de gonocoque;* ou, au contraire, disparition par diminution progressive de la taille en passant par des formes en grains de plus en plus petits.

Pour la pénicilline, les mêmes modifications s'observent également : Putkonen (87).

On peut voir, semble-t-il, au cours des traitements par les antibiotiques, des modifications du gram et observer, dans quelques rares cas, des gonocoques gram-positifs, mais il s'agit d'un caractère très transitoire et la cessation du traitement, de même que la culture, amène la réapparition des caractères normaux.

En conclusion de ce long exposé nous nous rangerons à l'opinion classique qui fait du gonocoque, à l'opposé du colibacille par exemple, un *germe stable dans ses caractéristiques tinctoriales et morphologiques,* et, sur ce dernier point, les travaux de microscopie électronique ne semblent devoir faire envisager aucune modification.

Constitution Biochimique

Il s'agit là d'une question encore mal connue et qui a surtout fait l'objet de travaux de la part des bactériologistes américains. Aussi est-ce à l'article très documenté de J.-H. Hill (46) que nous emprunterons les données que nous allons exposer.

L'étude biochimique du gonocoque a abouti à la mise en évidence de *deux fractions, l'une hydrocarbonée* et *l'autre protidique*.

Des *constituants hydrocarbonés*, on a isolé, en poussant la scission, *deux fractions différentes. La première* qui a fait l'objet des études de Casper, 1930-1937-1941, est un *polysaccharide spécifique de type*, et ce serait ce constituant qui serait à la base des réactions cutanées allergiques employées dans le diagnostic de blennorragie.

Où se localise ce polysaccharide ? On sait, par exemple, que pour le pneumocoque ces polysaccharides spécifiques de type sont des constituants capsulaires en même temps que les supports de la virulence et des propriétés antigéniques. Pour le gonocoque une précision semblable est loin d'être acquise, puisqu'on ne sait même pas si le germe a ou non une capsule.

Le *deuxième constituant glucidique* a été étudié par Boor et Miller, en 1931; ils pensent qu'il s'agit probablement d'un *polysaccharide non spécifique de type*, combiné aux constituants somatiques puisque Miller et Boor (1934) n'admettent pas la capsule du gonocoque.

Les *fractions protidiques* ont fait l'objet des études de Casper (1930) et de Miller et Boor (1931) et d'autres auteurs américains

Selon Casper, il s'agit de nucléoprotéines qui sont *toxiques*. Pour cet auteur la toxine gonococcique serait une partie de la fraction protidique du germe ou, en tout cas, liée à elle.

CHAPITRE II

Culture

Ce chapitre, qui va nous retenir assez longuement, sera divisé en *deux parties* d'inégale importance. Dans la *première*, nous étudierons *les différents milieux et leurs compositions*. Disons tout de suite qu'en raison du nombre considérable de milieux décrits par les différents auteurs pour l'isolement, la récolte et la conservation du gonocoque, nous serons forcé de faire un choix et de ne parler que des principaux milieux d'isolement.

Dans la *deuxième partie*, beaucoup plus brève, nous envisagerons les *conditions physiques* qui sont les plus favorables au développement du diplocoque de NEISSER.

I. — LES MILIEUX DE CULTURE

Depuis qu'en 1884, BUMM réussit à faire pousser sur un milieu au sérum humain et au sérum de bœuf le germe découvert par NEISSER cinq ans auparavant, les bactériologistes ont fabriqué d'innombrables milieux de culture pour le gonocoque. Comme le germe est très difficile à cultiver, les auteurs ont cherché des milieux complexes et riches qui puissent répondre aux exigences de l'hôte auquel on les destinait. Ceci valut au début une véritable floraison de recettes dans lesquelles prirent place les constituants les plus divers, depuis le cerveau de fœtus humain jusqu'au pénis de cheval. Nous passerons complètement sous silence ces recherches aujourd'hui tombées dans l'oubli, en signalant seulement qu'on peut trouver tous renseignements sur ce sujet dans GISCARD (37) ou TEMPÉ (97).

Assez vite cependant, on s'aperçut de l'excellente valeur du *sang* et des *exsudats albumineux*. On découvrit également la nécessité d'enrichir les milieux soit par des *extraits d'organes*, soit par des *extraits microbiens* — GISCARD (37), TEMPÉ (97) — *ou levuraires* SARTORY (91), TEMPÉ (97) — soit plus tardivement par des constituants simples, végétaux, minéraux ou organiques.

Ainsi se fit jour peu à peu la notion de « *facteurs de croissance* » qui furent longtemps désignés sous le terme imprécis de *vitamines*.

On en arrive, aujourd'hui, à tenter la fabrication de *milieux synthétiques* dont on fait varier les constituants pour connaître avec précision les besoins nutritifs du gonocoque.

Suivant ce plan, basé dans ses grandes lignes sur l'historique, nous étudierons successivement les milieux classiques de base, puis quelques uns des différents milieux décrits durant ces quinze dernières années; ensuite nous envisagerons les recherches qui ont été faites sur les facteurs de croissance et les tentatives de milieux synthétiques; enfin, nous terminerons par l'étude des *milieux sélectifs* et des *milieux de transport*.

LES MILIEUX CLASSIQUES DE BASE

Deux constituants essentiels sont utilisés pour la pousse du gonocoque : l'*ascite* et le *sang*.

LES MILIEUX A L'ASCITE

La *gélose ascite* fut employée pour la première fois par KIEFFER en 1895.

La préparation de ce milieu est simple. On fait fondre de la gélose ordinaire à 3 % que l'on laisse refroidir jusqu'à 50°-60°; à ce moment on ajoute un tiers de liquide d'ascite stérile.

La stérilité de l'ascite est obtenue, dans le cas où le prélèvement aurait été souillé, par tyndallisation ou par filtration.

Ce n'est donc pas du côté de la préparation que viennent les difficultés de l'emploi de l'ascite. Par contre, il est un inconvénient sur lequel ont insisté tous les auteurs, c'est l'*irrégularité*

des résultats obtenus sur ce milieu. Il y a des ascites très favorables à la pousse du gonocoque, et d'autres qui ne le sont pas. A cela aucune raison n'a été encore découverte; on avait pensé un moment que les ascites les plus albumineuses seraient les plus favorables mais cette hypothèse s'est révélée sans fondement; on avait ensuite cherché si, parmi les deux albumines, c'était la globuline ou la sérine qui jouait un rôle prépondérant, mais, là encore, on n'aboutit à aucun résultat.

Il n'y a, en définitive, qu'une seule possibilité pour apprécier la qualité d'une ascite, c'est l'expérimentation d'un échantillon.

Cependant, malgré ces inconvénients, la gélose-ascite est un milieu souvent très favorable et qui permet, en raison de sa transparence, une bonne *étude macroscopique des colonies* de gonocoque.

Les auteurs classiques les décrivent ainsi : *en* 24 *heures,* petites taches rondes, saillantes, transparentes, d'un blanc grisâtre ou bleuté, de 1 mm de diamètre environ; examinées avec une forte loupe, les colonies sont homogènes, à bords réguliers; elles adhèrent à la gélose en donnant une impression de viscosité; souvent elles sont enlevées en masse par le fil de platine; elles s'émulsionnent difficilement en donnant une suspension non homogène.

Au bout de 48 *heures,* le diamètre atteint 2 à 3 mm, elles sont notablement surélevées, mais sont demeurées transparentes, leur surface est luisante et régulière, leur teinte est légèrement bleutée.

Cependant, cette description, assez univoque, n'englobe pas tous les aspects des colonies de gonocoque et, déjà, Giscard (37) avait remarqué qu'il fallait examiner même les colonies ne ressemblant pas à celles du gonocoque, si on ne voulait pas faire des erreurs par omission.

A l'heure actuelle, on admet que les colonies de *Neisseria gonorrhoeae* peuvent se présenter sous les quatre aspects suivants :

Colonies S (*Smoth*) : rondes, convexes, opaques, à bords réguliers, à surface lisse;

Colonies R (*Rough*) : plates, irrégulières de forme et de contour, à surface rugueuse;

Colonies mucoïdes : transparentes, rondes, humides;

Colonies minutes : punctiformes, échappant à toute description, s'observant lorsque les conditions de culture sont défavorables.

On sait que les *variantes S et R* correspondent à des *variations de virulence et de pouvoir antigénique.*

Ces notions ne s'appliquent pas au gonocoque avec une parfaite rigueur. Si, en effet, la *colonie S* correspond, en règle générale, à un germe complet, virulent, possédant le polysaccharide spécifique de type, et la *colonie R* à un organisme dégradé, avirulent, ayant perdu son polysaccharide, ces affirmations ne peuvent pas être formelles, car le gonocoque est un germe instable dont les colonies se modifient très rapidement sur les milieux de culture, en prenant des caractères intermédiaires entre S et R, et sont difficiles à étudier. Cette question des rapports de la virulence, des propriétés antigéniques et de la forme des colonies reste, par conséquent, encore mal connue.

Atkin (1923), par exemple, décrit des faits inverses de ceux qui viennent d'être exposés. Pour lui, les colonies les plus virulentes sont les colonies plates, irrégulières, avec une saillie centrale; elles deviennent peu à peu plus petites, plus rondes, plus denses et perdent leur virulence.

Enfin, pour ce qui est des colonies mucoïdes ,elles peuvent être aussi bien virulentes que non virulentes.

On peut également réunir dans le même chapitre tous les milieux où l'ascite est remplacée par un *épanchement albumineux pathologique : kyste de l'ovaire, hydrosalpinx, péricardite, pleurésie, hydrocèle;* ce dernier étant, de tous, le seul utilisé à l'heure actuelle : milieu de Pitts (61) qui donne de bons résultats.

LES MILIEUX AU SANG

Le sang est obtenu par ponction stérile et rendu incoagulable par l'adjonction de citrate ou par agitation avec des perles de verre. L'origine du sang semble n'avoir qu'une importance relative, et on a employé avec les mêmes résultats (Bergé — 9) le

sang humain et le sang de cheval. Les sangs de lapin et de cobaye seraient moins bons.

Les milieux au sang présentent un avantage : ils donnent des *résultats constants* et Bergé conclut de ses travaux qu'un sang moyen est aussi bon qu'une très bonne ascite.

Le plus classique de tous les milieux au sang est la *gélose au sang* de Bezançon et Griffon, qui est constituée par un tiers de sang de lapin, défibriné, et deux tiers de gélose.

Mais des variantes ont été utilisées. Le sang peut ne pas être incorporé au milieu, mais simplement répandu sur lui, et on obtient ainsi des *géloses sanglantes*. Celle de Pfeiffer est obtenue en répandant à la surface de la gélose 2 à 3 cc. de sang humain pur et frais. Giscard (37) a modifié ce milieu en utilisant au lieu de sang frais, du sang défibriné conservé à la glacière ou à la température ordinaire pendant vingt-quatre heures. Pour cet auteur, le sang n'agit pas comme élément nutritif, mais comme « hormone de croissance ».

La deuxième grande modalité d'application du sang consiste à employer du *sang hémolysé*. Le type de ces milieux est le milieu de Weissenbach, qui est constitué par de la gélose à laquelle on a joint du sang citraté laqué par l'éther.

Enfin, au lieu d'utiliser le sang total, on peut utiliser certains de ces éléments comme le *sérum : sérum humain* (milieu de Wertheim) ou *sérums animaux* (milieu de Wasserman, de Dujol, de Kral, de Carpano), ou le *plasma* (milieu de Thomson au plasma humain).

D'innombrables milieux au sang se rattachent à l'une ou à l'autre de ces catégories.

On a cherché à savoir quel était l'élément du sang qui jouait un rôle favorisant dans la croissance du gonocoque. Tempé (97), qui a étudié la question, arrive à la conclusion que les *facteurs de croissance* sont contenus dans les *globules* et non dans le sérum. Dans les globules on peut distinguer *deux facteurs stimulants : le facteur V*, thermolabile, et le *facteur X*, thermostable, lié à l'hémoglobine. Pour Tempé (97) et pour Bergé ipj l'action stimulante disparait si l'on utilise du sang chauffé et pourtant les mêmes milieux, dits « *milieux chocolat* » jouissent aux Etats-Unis d'une grande vogue. Pour Tempé (97) l'action

favorisante relève de l'hémoglobine et il en donne pour preuve que les meilleurs résultats sont obtenus avec du sang hémolysé.

Les milieux à l'ascite et au sang ne résument pas, loin de là, tous les milieux qui ont été appliqués à la culture du gonocoque. Il faudrait parler des milieux aux extraits d'organes, chauffés ou non chauffés, des milieux à l'œuf, au lait, etc... Pour ne pas allonger démesurément notre exposé, nous renvoyons sur ce chapitre à la très complète étude générale faite par Bergé en 1939 (9).

LES MILIEUX MODERNES

Ici encore nous nous limiterons à quelques-uns des milieux les plus employés au cours de ces quinze dernières années. Pour une plus ample documentation sur ce sujet, on pourra se reporter au travail de Debray et Le Minor (24).

Milieu de Mac Léod *et de ses collaborateurs*

Ces auteurs, se rapportant à leurs travaux antérieurs (39) sur l'effet inhibiteur de certains acides aminés et de la peptone, adoptent en 1934 un milieu où la peptone est ajoutée avant l'autoclavage (travaux de Wright, 1930) et où le sang chauffé s'oppose aux facteurs inhibiteurs des acides aminés.

Le milieu se prépare de la manière suivante :

Dans un litre d'eau distillée chauffée à 60°, on dissout 10 grammes de peptone et 2 grammes de phosphate disodique; à cette solution on ajoute 500 grammes de bœuf maigre haché et on porte le tout, d'abord à 60° pendant 45 minutes, ensuite à l'autoclave pendant 30 minutes. On filtre, on ajuste à pH 7,4 et on ajoute 12 grammes de gélose. Le milieu est enfin stérilisé à 121° pendant 15 minutes.

A ce milieu de base, qui se conserve, on ajoute au moment de l'emploi, du sang humain citraté stérile dans la proportion de 10 cc de sang pour 100 cc de milieu. Le milieu définitif est alors porté à 80° jusqu'à couleur chocolat et employé le jour même de sa fabrication.

Milieu de LEAHY *et* CARPENTER (1936)

C'est un milieu tout à fait semblable; le milieu de base est de la gélose de DOUGLAS (digestion tryptique de cœur de bœuf) à laquelle on ajoute 5 % de sang de cheval défibriné stérile. Comme pour le milieu de MAC LÉOD on chauffe jusqu'à couleur chocolat.

Enfin, ces auteurs codifièrent une technique d'incubation, aujourd'hui classique, dont nous reparlerons plus loin.

Milieu de REYMANN (1943)

Après étude comparative de différents milieux, REYMANN, de l'Institut Sérothérapique Danois de Copenhague, arrive à la conclusion suivante : les résultats les plus satisfaisants sont obtenus sur milieu de MAC LÉOD, mais c'est cependant sur gélose ascite que l'on voit les plus grosses colonies. Il décrit donc un milieu de MAC LÉOD additionné d'ascite dans la proportion d'un tiers qui lui parait la plus favorable.

La préparation du milieu de REYMANN est la suivante : 500 grammes de viande hachée sont mis à macérer une nuit à la glacière avec 500 grammes d'eau. Le lendemain, ébullition 10 minutes. Filtrer. Ajouter de nouveau à la viande 500 cc d'eau et faire de nouveau bouillir 10 minutes. Filtrer. Mélanger les deux extraits Ajouter 10 grammes de peptone, 3 grammes de sel et 2 grammes de phosphate disodique. Porter à ébullition et amener le pH à 8,1-8,2 au moyen de soude N/5. Ramener à 1000 cc. avec de l'eau distillée et stériliser à l'autoclave. Le pH doit être descendu à 7,3-7,4. Refroidir à 48°, ajouter 100 cc de sang stérile défibriné de cheval. Chauffer 30 minutes à 80°, refroidir à 48° et mélanger avec de la gélose ascite dans la proportion de deux parties de bouillon au sang pour une partie d'ascite. Répartir en boîtes de Pétri. La préparation de la gélose ascite est la suivante. Le bouillon de bœuf ci-dessus est gélosé à 1,8 % et stérilisé trois jours de suite pendant 20 minutes en vapeur fluante. Après stérilisation, le pH est de 7-7,1. 600 cc de cette gélose sont mélangés à 48° avec 300 cc d'ascite stérile. Le pH final est de 7,4 mais, comme le pH de la gélose-ascite s'élève dans les premiers jours à 7,8, on ajoute 9 cc d'acide chlorydri-

que N/2, ce qui ramène le pH à 7, puis tous les jours suivants à 7,4.

Ce milieu, de préparation assez complexe, est très utilisé par les auteurs scandinaves.

Milieu de NEUMANN

Neumann décrivit en 1935 (78) un milieu au sang qui est constitué par les deux milieux élémentaires suivants :

Milieu A : Eau distillée, 1 volume.
Sang de cheval, 2 volume.

Cette « *eau de sang* » est inactivée par chauffage à 57° pendant 30 minutes.

Milieu B : Bouillon de bœuf gélosé à 2,5 %.

Le milieu final est obtenu par mélange de 20 % de milieu A et 80 % de milieu B.

Milieu de PEIZER *et* STEFFEN

Ces auteurs, se rapportant aux travaux de COLE et LLYOD (1916) sur la valeur des hématies et à ceux de JENKINS (1922) sur la valeur du plasma citraté, décrivirent leur milieu en 1939 et le perfectionnèrent par la suite (83).

La préparation initiale était la suivante. A partir de sang citraté de cheval on sépare par décantation le plasma et les globules. Ces derniers sont hémolysés par addition d'eau distillée dans la proportion de cinq à un. Par ailleurs, on a préparé une gélose au bouillon de veau. Le milieu définitif est obtenu en mélangeant les différents constituants dans les proportions suivantes :

— 25 cc de gélose au bouillon de veau;
— 3 cc de plasma;
— 1 cc de la solution d'hémoglobine.

Le milieu doit être utilisé le lendemain de sa préparation.

On peut rapprocher de ce milieu de PEIZER et STEFFEN celui qu'on décrit en 1946 CAMERON et CASTLES (13) : gélose chocolat protéose-peptone N° 3 additionnée de 5 % de plasma humain filtré et de 0,2 % de glucose.

Milieu de Reid

Ce milieu a été décrit en 1942. On le prépare de la façon suivante :

10 kilos de viande de porc hachée sont mis à macérer dans 20 litres d'eau pendant une heure et portés ensuite à ébullition durant 5 minutes en agitant constamment. On filtre sur gaze, puis sur papier. Ajouter alors par litre 10 grammes de protéose-peptone N° 3 Difco et 5 grammes de sel. Dissoudre à chaud et ajuster à pH 7,6. Ebullition pendant 20 à 30 minutes. Ramener au volume primitif au moyen d'eau distillée. Géloser à 15 grammes par litre, réajuster le pH et répartir en tubes. Stériliser à l'autoclave.

Au moment de l'emploi, on ajoute au milieu, à 80-90°, 10 % de sang humain, de cheval ou de lapin, citraté ou défibriné. Agiter jusqu'à l'obtention de la couleur chocolat et répartir en boites de Pétri.

Milieu de Mueller-Hinton

Ce milieu, qui date de 1941, se distingue des précédents par l'emploi de l'amidon et de l'hydrolysat de caséine.

Voici la préparation que décrivent les auteurs :

Ajouter 17 grammes de gélose sèche à 500 cc. d'eau dans un flacon de deux litres. Autoclaver 15 minutes pour dissoudre, et ajouter alors le mélange suivant :

Bouillon de viande	300 cc.
Hydrolysat de caséine (Difco)	17 gr. 5
Empois d'amidon	100 cc.
Eau	100 cc.

Ajuster le pH à 7,4-7,6. Mélanger et distribuer. Autoclaver pas plus de 10 minutes à 116°.

Le bouillon de viande est préparé en ajoutant 500 grammes de viande (langue ou cœur de bœuf) à 500 cc. d'eau. Porter à l'ébullition vive. Filtrer sur flanelle, puis sur papier. Cette infusion peut être conservée à la glacière, dans des récipients fermés contenant quelques centimètres cubes de chloroforme.

L'empois d'amidon est préparé en suspendant 1 gr. 5 d'ami-

don ordinaire dans 100 cc. d'eau froide. Verser lentement en agitant dans 100 cc. d'eau bouillante.

Milieu de VERA

Ce milieu, tout récemment décrit, puisqu'il date de 1948, présente l'avantage de pouvoir être facilement stérilisé, de pouvoir aisément être transformé en milieu de fermentation, et enfin, de conserver la vitalité du gonocoque pendant dix jours environ.

La composition est la suivante (103) :

Digestion pancréatique de caséine	20 gr.
Cystine	0 gr. 50
Sulfite de sodium	0 gr. 50
Chlorure de sodium	5 gr.
Gélose	53 gr.
Rouge de Phénol	0 gr. 017
Eau distillée	1.000 cc.

Le milieu peut être préparé avec ou sans sucre (0,5 à 1 %) et, après ajustement du pH final à 7,3, il est réparti en tubes et autoclavé à 116°-118° pendant 15 minutes. Les tubes stériles sont gardés à la température du laboratoire et utilisés suivant les besoins.

LES FACTEURS DE CROISSANCE

Très vite, nous l'avons vu, les chercheurs qui se sont attachés à la culture du gonocoque se sont préoccupés d'incorporer à leurs milieux des éléments favorisant la croissance du germe.

Le sang fut un des premiers connus et nous avons dit plus haut ce que l'on savait sur les facteurs de croissance qu'il contient.

Bien d'autres facteurs furent ensuite retenus et les *extraits ou filtrats microbiens :* d'*entérocoque* (GISCARD), de *staphylocoque* (NOGUÈS, DURUPT, M^me^ AITOFF, BALSAMELLI), de *gonocoque* (FERRARI), furent incorporés aux milieux.

TEMPÉ (97) et SARTORY (91) trouvèrent une action très favo-

rable aux extraits chauffés de champignons inférieurs du type *mucor*.

Wyss-Chodat utilise pour aider la pousse du gonocoque les extraits de levure. N.-A. Weber (104) et Lankford (58) enrichissent leurs milieux avec des *extraits* de *foie*.

Gordon et Mac Léod (39) décrivirent les *effets inhibiteurs* de certains *acides aminés* et des *peptones*, effets contrebalancés par la présence de sang chauffé.

L'*amidon* neutralise les effets inhibiteurs de la gélose (41-67) et c'est dans ce but qu'il est incorporé au milieu décrit plus haut de Mueller et Hinton. Le *charbon*, en raison de ses propriétés adsorbantes, a été utilisé sous diverses formes par Glass et Kenett (38) pour fixer les facteurs inhibiteurs.

Enfin dans ces dernières années les bactériologistes américains se sont appliqués à préciser le rôle et la valeur de nombreuses substances chimiquement définies. Parmi elles, certaines ont été plus particulièrement étudiées. La *cystine*, notamment, est trouvée inhibitrice par Mac Léod (39) et par Gould, Kane et Mueller (41). Schubert et ses collaborateurs (91) pensent qu'elle est sans action, mais par contre Higginbotham (45) la considère comme favorisante à la concentration de 0,1 %. Peizer et Steffen (85) l'incorporent à leur milieu de transport à la concentration de 0,3 %, et elle entre dans la composition du milieu de Cohn (19) et de Huffer et Hill (24). Lankford et Skaggs avancent que l'action de cette substance est variable suivant les milieux et que la concentration favorable est très près de la concentration nuisible. Mueller et Hinton sont du même avis ainsi que Cohn, et ce dernier a trouvé que la concentration de 0,5 % inhibe tous les organismes, alors que celle de 0,02 % favorise la pousse du gonocoque.

La cystine peut être remplacée par la *méthionine*, le *glutathion*, l'*acide thioglycollique*, etc...

La *glutamine* a été également étudiée comme facteur de croissance par Lankford et Snell (59) qui préconisent la concentration optimum de 0,01 à 0,02 % sans laquelle 15 % des souches de gonocoques ne poussent pas

C'est la *glutamine* ou un *facteur voisin* (*acide glutamique*, *glutathion*, ou un autre corps non déterminé) qui expliquerait

selon Lankford, Scott, Cox et Cook, le *rôle favorisant des extraits de levure et de foie.*

Bien d'autres substances ont été étudiées par les auteurs américains, mais nous ne pouvons pas entrer dans le détail de ces travaux dont l'article de J.-H. Hill (46) fournit une revue suivie d'une bibliographie récente et complète.

L'aboutissant de toutes ces recherches a été la constitution de *milieux synthétiques* par Gould, Kane et Mueller (41) et Welton, Stokinger et Carpenter (107) en 1944. Ces milieux sont très complexes et tout à fait hors de portée du laboratoire courant, puisque le dernier ne comprend pas moins de neuf acides organiques, cinq sels minéraux et du glucose. Ils mettent cependant sur la voie d'une connaissance plus approfondie du germe et de ses besoins nutritifs, et permettent d'espérer pour l'avenir des résultats dont la clinique et le laboratoire courant pourront un jour tirer parti.

MILIEUX SELECTIFS

On sait que la recherche de milieux, qui, par leurs compositions, favorisent au mieux la pousse d'un seul germe parmi tous ceux apportés par l'ensemencement d'un échantillon pathologique polymicrobien, est à l'ordre du jour des travaux des bactériologistes modernes. De remarquables résultats ont été obtenus dans ce sens et on peut citer en exemple le *milieu de* Clauberg pour le bacille de Löffler, ou le *milieu SS* dont la simple lecture à l'œil nu permet de différencier les principales entéro-bactéries.

Pour le gonocoque le même problème se pose. En effet, sauf les cas de blennorragie aiguë, où il est pratiquement à l'état pur, secondaire (staphylocoques, diphtéroïdes, etc...) qui sont plus nombreux que lui et surtout moins exigeants dans leurs besoins breux que lui et surtout moins exigeants dans leurs besoins nutritifs. Ils se développent rapidement et abondamment sur les milieux riches qui sont nécessaires au diplocoque de Neisser et risquent de masquer ou d'étouffer la pousse de celui-ci.

Le problème a été attaqué depuis longtemps et on peut citer ses tra aux de Cook et Stafford en 1921 qui incorporent à leur [illegible] du cristal violet, du vert brillant et du vert malachite.

A la même époque Erickson et Albert emploient le violet de méthyle à la concentration de 1/200.000. Les premiers résultats ne furent pas satisfaisants et Bergé, en 1939, écrit qu'il n'existe pas de milieu sélectif.

A l'heure actuelle, cependant, certains milieux très employés utilisent des *antiseptiques* pour inhiber la croissance des germes d'infection secondaire.

Milieu de Gardner

Décrit en 1940, ce milieu est à base de blanc d'œuf et l'antiseptique utilisé est le *bleu de Nil A*.

On le prépare de la manière suivante :

1° *Préparation de la solution stock de blanc d'œuf.*

80 cc. de blanc d'œuf prélevé stérilement sont additionnés de 20 cc. d'eau distillée et de 15 cc. de NaOH N /1. Mélanger et chauffer au bain-marie pendant quatre heures, en agitant fréquemment. Ajuster à pH 7,5 au moyen de HCl.

2° *Préparation du bouillon :*

Un kilo de cœur de bœuf haché est additionné de 1.000 cc. d'eau distillée et mis à macérer soixante heures à la glacière. Puis, chauffer et filtrer. Ajouter alors :

Protéose peptone	20 gr.
ClNa	10 gr.
Nitrate de potassium	10 gr.
Phosphate disodique	10 gr.

Chauffer pour dissoudre et ajuster à pH 7,8. Ebullition dix minutes. Ramener au volume initial, filtrer, distribuer et chauffer vingt minutes à l'autoclave.

3° *Préparation du milieu :*

Stériliser de la gélose à 4 % pendant vingt minutes à l'autoclave. Dès que la pression est redevenue normale, ajouter une quantité égale de bouillon. Ajuster à pH 7,5. Laisser sédimenter.

Puis, préparer le mélange suivant :

Solution de blanc d'œuf	17 cc.
Ascite	13 cc.
Vitamine B.	1 cc.
Solution de bleu de Nil A à 0,04 %.	0 cc. 3

Quand la gélose est à 60°, ajouter 70 cc. de celle-ci au mélange précédent. Répartir. Ce milieu se conserve indéfiniment à la glacière.

Le gonocoque pousse sur ce milieu en donnant des colonies bleu-verdâtres, et la gélose sous-jacente est de couleur ambre. La culture des germes autres que le gonocoque serait réduite de 50 %. Le bleu de Nil ne nuit ni à la transparence du milieu, ni à la réaction d'oxydase.

Milieu de Peizer *et* Steffen (84)

Ce milieu est un perfectionnement de celui décrit par les auteurs en 1939 et dont nous avons donné plus haut la composition. Il diffère du précédent par le remplacement du bouillon de veau par une gélose aux extraits secs et par l'utilisation du bleu de Nil A.

Voici la formule de ce milieu :

Gélose de base :

Protéose peptone N° 3 (Difco)	20 gr.
ClNa	5 gr.
Gélose	20 gr.
Eau	1.000 cc.

Ajuster à pH 7,3-7,4 au moyen de phosphate disodique. A 300 cc. de ce milieu à 60° ajouter 30 cc. de plasma stérile de cheval, 50 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 5 %, 1 cc. de glucose stérile à 20 % et 10 cc. de phosphate disodique à 15 %. La solution d'hémoglobine est préparée en ajoutant 50 cc. de globules rouges de cheval sédimentés à 950 cc. d'eau distillée stérile. (On peut remplacer le sang de cheval par du sang de bœuf ou de mouton — Cohn et Kruger).

On peut en pratique préparer d'avance le mélange *plasma-hé-*

moglobine-phosphate disodique et glucose qui se conserve bien à la glacière. On en ajoute 91 cc. à 300 cc. de gélose fondue pour préparer le milieu. A 100 cc. de ce milieu on additionne de 0 cc. 3 à 0 cc. 6 d'une solution de bleu de Nil A à 0,04 %.

Le milieu de Peizer et Steffen est presque incolore et se conserve deux semaines au laboratoire ou à la glacière. Tous les diphtéroïdes y seraient éliminés.

D'autres antiseptiques colorants ont été utilisés : cristal violet, vert de méthyle, vert brillant sans donner de bons résultats.

Le *violet de gentiane* supprimerait la majorité des bactéries gram-positives, mais le gonocoque y est égalemen sensible.

Torrey et Buckel conseillent l'emploi du *violet de méthyle* à la concentration de 1 cc. d'une solution à 1/125.000 pour 15 cc. de gélose. Ils recommandent, cependant, de toujours utiliser parallèllement un milieu sans antiseptique.

Enfin, Stokinger, Ackermann et Carpenter (96) emploient la *thyrothricine* en solution alcoolique et ils recommandent la concentration de 1/15.000 dans de la gélose chocolat. Le milieu inhiberait complètement les diphtéroïdes, le streptocoque, le *lactobacillus acidophilis* et partiellement le staphylocoque blanc. Il serait sans action sur le gonocoque et sur le staphylocoque doré.

Ce problème du milieu sélectif, pour le germe qui nous occupe n'est pas encore résolu. Toute la difficulté vient de ce que le gonocoque est sensible aux antiseptiques utilisés contre les germes d'infection secondaire et que la marge qui sépare les différentes sensibilités est très étroite.

Pour ces raisons, les milieux sélectifs sont encore loin d'être entièrement satisfaisants et de nombreux auteurs préfèrent employer les milieux ordinaires.

MILIEUX DE TRANSPORT

La question des milieux de transport est, avec l'étude des milieux sélectifs, celle qui est le plus à l'ordre du jour. Il est en effet, une notion bien connue, c'est la fragilité du gonocoque en dehors de l'organisme et les premiers chercheurs pratiquaient leurs ensemencement devant la porte même de l'étuve. Malheureusement ces conditions ne sont pas applicables aux examens

en grande série et les tentatives furent nombreuses pour trouver un milieu qui permette un ensemencement différé après transport au laboratoire, sans perte sensible du pourcentage des résultats positifs.

Les milieux utilisés les plus simples sont des milieux liquides, bouillon de veau, eau peptonée contenant 2 % de protéose-peptone N° 3, bouillon glycériné à 20 %. On les conserve soit à la température du laboratoire, soit à 0° et on les ensemence dans les six heures qui suivent le prélèvement. Ils ne donnent pas satisfaction à Cohn (19), ni à Schubert (93).

Des milieux plus complexes furent alors décrits :

Milieu de Reid. — 1942

Peptone	15 gr.
Glucose	2 gr.
Amidon	10 gr.
NaCl	5 gr.
Phosphate disodique	3 gr.
Gélatine	10 gr.
Gélose	4 gr.
Eau distillée	1.000 cc.

Ajuster à pH 7,4. Répartir en petits tubes et stériliser.

Le coton, qui a servi à faire le prélèvement, est introduit dans ce milieu semi-solide qui est laissé à l'étuve jusqu'au transport au laboratoire. Le repiquage doit se faire au maximum douze heures après l'ensemencement.

Ce milieu, expérimenté par l'Institut Pasteur, a donné de bons résultats et est sur le point d'être commercialisé .

Milieu de Hirschberg. — 1944

Le milieu est ainsi constitué :

Au milieu de base suivant :

Protéose-peptone N° 3 (Difco)	4,5 %
Gélose	0,5 %
Gélatine	4 %

on ajoute 20 % de sang, 0,3 % de charbon animal et 0,024 % de bleu de Nil A. Les tampons sont introduits dans le milieu qui est expédié sans précaution de température. Au laboratoire, les tampons retirés du milieu de HIRSCHBERG sont ensemencés en milieu solide.

Milieu de BUCK. — 1947

L'auteur, estimant que les milieux habituels ne donnent pas satisfaction, décrit un milieu (12) où le gonocoque conserverait sa vitalité pendant seize à dix-huit heures. En voici la compostion :

Gélose	0,4	gr.
Gélatine	10	gr.
Glycérine	4	cc.
Eau distillée	100	cc.
Sérum de bœuf inactivé	3	cc.
Albumine d'œuf frais	15	cc.

Le pH est ajusté au moyen de 30 à 40 cc. de phosphate monopotassique de manière à avoir un pH final de 6,5 à 6,8. Le repiquage se fait sur protéose-peptone gélosée N° 3 additionnée de 2 % d'hémoglobine et de 0,5 % de supplément Difco B.

PEIZER et STEFFEN (86) préfèrent ensemencer directement une large surface de leur milieu, qu'ils laissent vingt-quatre heures à la température du laboratoire. Cette méthode, supérieure à d'autres qu'ils ont expérimentées, leur a donné 96,16 % de résultats positifs par rapport à l'ensemencement direct.

Milieu de MOFFET et YOUNG. — 1948

Ces auteurs (73), après étude critique des différents milieux de transport et des causes de la fragilité du gonocoque, arrivent à la conclusion que le facteur essentiel de sa mort rapide n'est pas la température ou la dessication, mais *l'oxydation*. Ils imaginent, donc, un milieu non nutritif contenant un réducteur. La viabilité du gonocoque serait sur ce milieu toujours supérieure à vingt-quatre heures et pourrait atteindre quinze jours.

Le milieu est ainsi fabriqué. A 190 cc. d'eau distillée gélosée

à 3 % on ajoute 0,2 cc. d'acide thioglycollique et NaOH N/1 jusqu'à pH 7,2. Le mélange est additionné de 10 cc. de glycérophosphate de sodium à 20 % et de 2 cc. d'une solution de chlorure de calcium à 1 %. On mélange et on amène à pH 7,4 au moyen de NaOH N/1 et on ajoute enfin 0,34 cc. de bleu de méthylène à 1 % pour avoir une concentration terminale de 1/500.000.

Le milieu est distribué en petits flacons en quantité telle que ceux-ci soient pleins quand l'écouvillon y sera mis. On stérilise trente minutes à l'autoclave et on rejette les flacons qui se recoloreraient en bleu.

Une fois le prélèvement effectué, le coton est introduit dans le flacon contenant le milieu de transport qui est soigneusement fermé par une capsule à vis.

Ce milieu donne aussi d'excellents résultats pour le transport des *Trichomonas vaginalis* dont la présence est très fréquente dans les leucorrhées.

II. — CONDITIONS PHYSIQUES

La composition chimique des milieux de culture, pour aussi importante qu'elle soit, n'est pas le seul facteur qui soit à la base d'une pousse favorable du gonocoque. Des conditions physiques, maintenant bien connues, doivent être également remplies.

Nous distinguerons les conditions physiques spéciales au milieu et les conditions générales dans lesquelles doit se faire l'incubation.

CONDITIONS PHYSIQUES DES MILIEUX

La première à remplir se rattache à la composition chimique, puisqu'il s'agit de l'équilibre acide-base des milieux. Au début, peut-être pour se rapprocher de l'acidité urinaire, les milieux recommandés avaient assez souvent un pH acide et on fabriquait des milieux à l'acide citrique, ou mieux au suc de citron, Ikoma (1925), Göhring (1934), Fioro (1934), Giscard (37) recom-

mande également de composer les milieux jusqu'à obtention d'une réaction neutre ou légèrement acide. Scartozzi (92), plus récemment, a même réussi à faire pousser des gonocoques sur milieu de Tsuda (macération de cœur de cheval) à pH 5,8 en présence de suc de citron.

A l'heure actuelle, cependant, et depuis déjà une dizaine d'années, il est acquis que le gonocoque a besoin d'un *milieu légèrement alcalin*. Bergé (9) recommande le pH 7,4 et c'est aux environ de ce chiffre que se situe le pH de tous les milieux que nous avons cités. Koch (53) a fait des expériences sur gélose digestion pancréatique-sang chauffé, dont il a fait varier le pH et il aboutit aux conclusions suivantes : à pH 7,2, culture abondante, à pH 6,8, culture deux fois moindre, à pH 6,6, culture nulle. Cet auteur pense que les variations de pH du mucus cervical peuvent expliquer une proportion importante des cultures infructueuses.

La *deuxième condition* que doit remplir le milieu est celle d'une consistance adéquate. Ceci, qui peut paraître à première vue assez négligeable, est, au contraire, d'une grande importance, comme on ne tarde pas à s'en apercevoir d'ailleurs dans la pratique Le gonocoque pousse mal sur un milieu dur sur lequel il subit une lyse; il lui faut un *milieu mou*, peu gélosé, et la limite de possibilité de l'ensemencement à l'öse, critère pratique facile à apprécier, doit être la consistance choisie. Mac Léod (69), rapportant les travaux de Lastly et Herrold (1928), recommande une proporton de gélose de 1 à 1,5 %. Torrey et Buckel, Tulloch, Schwartz, Jenkins ont bien étudié cette question et aboutissent aux mêmes conclusions.

CONDITIONS D'INCUBATION

Elles sont également très importantes et concourent, avec des milieux satisfaisants, à l'obtention d'une pousse favorable du gonocoque.

Ce germe, on le sait, est très sensible au froid; peut-être moins, d'ailleurs, que ne l'ont dit les auteurs classiques, puisqu'on le conserve facilement quelques heures à 0° ou à la température

du laboratoire s'il est ensemencé sur un milieu convenable. Mais le gonocoque est également très sensible à la chaleur et pour le cultiver efficacement tous les auteurs depuis Giscard recommandent d'utiliser une étuve réglée un peu bas, entre 35° et 36°.

L'atmosphère doit être humide, saturée en vapeur d'eau, et le milieu ne doit pas avoir été préparé depuis trop longtemps pour éviter la dessiration. On enrichit en général la tension de vapeur de l'atmosphère d'incubation en plaçant, au fond du récipient où se fait celle-ci avant la stérilisation, une rondelle de papier-filtre.

La dernière condition à remplir est celle d'une composition convenable de l'atmosphère gazeuse.

Les premiers en 1916, Wherry et Olivier ont montré l'importance d'une tension réduite en oxygène pour la culture du gonocoque. Ils cultivaient le gonocoque dans un récipient clos, mis en communication avec un tube contenant du *B. Subtilis* qui réduisait la tension d'oxygène de l'atmosphère.

Chapin, en 1918, voulant se rapprocher de la teneur en CO^2 des tissus, enrichissait l'atmosphère de 10 % en CO^2 en utilisant un mélange acide sulfurique-bicarbonate de soude. Il obtenait une pousse beaucoup plus favorable en atmosphère enrichie qu'en atmosphère ordinaire.

Depuis ces précurseurs de nombreux travaux n'ont fait que confirmer ces notions devenues aujourd'hui classiques.

Mac Léod (69), après des études comparatives, recommande la proportion de 8 % de CO^2 qui importe surtout pour les premières cultures.

Neumann (79), étudie parallèllement l'atmosphère ordinaire (boite A), l'atmosphère diminuée en oxygène (boite C, scellée à la plastelline) et l'atmosphère diminuée en oxygène et enrichie en CO^2 (boite C additionnée d'un fragment de neige carbonique : boite D). Il remarque que les souches qui poussent en boite A poussent également en boite C et D, que les souches qui poussent en boite C poussent aussi en boite D, mais que certaines souches ne poussent qu'en boite D. Ce n'est qu'après plusieurs repiquages qu'on peut adapter la majorité des souches, mais non pas toutes, à pousser en atmosphère ordinaire.

Les moyens d'obtenir un enrichissement de l'air en CO^2 sont

assez nombreux : adjonction directe de CO^2 comprimé après aspiration d'air (Leahy-Carpenter, 1936), production du gaz par mélange mesuré et réglé d'acide sulfurique et de bicarbonate de soude (74), dégagement du gaz par fermentation d'avoine dans l'eau (proportion de 5 %-Morton) et enfin, procédé le plus simple et le plus utilisé, combustion d'une bougie en atmosphère confinée jusqu'à extinction. Par ce dernier procédé on obtient une proportion de 2 à 3 % de CO^2.

Une des dernières études faites sur la question est le très important travail de Ferguson (34) qui aboutit aux conclusions suivantes sur lesquelles nous terminerons ce long chapitre de la culture du gonocoque.

Il vaut mieux augmenter la tension en CO^2 que diminuer la tension d'oxygène. Une proportion de 10 % de CO^2 donne les mêmes résultats que telle, approximative, obtenue après combustion d'une bougie Le gonocoque pousse aussi bien sur gélose chocolat, dans une atmosphère enrichie en CO^2 dans des proportions variant entre 2 et 20 % Ce n'est qu'au-delà que le gonocoque pousse moins bien et avec une morphologie altérée. Enfin les proportions de 10 % d'hydrogène et d'oxyde de carbone ne stimulent pas la pousse du gonocoque.

CHAPITRE III

Propriétés du Gonocoque

Après avoir étudié en détail les procédés de culture et les caractéristiques morphologiques et tinctoriales du gonocoque, il nous reste encore, pour en avoir fini avec une étude cohérente de ce germe, à envisager les différentes propriétés qui le caractérisent et permettent de l'identifier avec certitude.

Nous avons groupé l'exposé de ces propriétés dans *deux chapitres* différents : les *propriétés biochimiques* tout d'abord, qui nous retiendront plus longuement que les *propriétés antigéniques*, qui nous ont paru s'éloigner du cadre de notre travail.

PROPRIETES BIOCHIMIQUES

Nous étudierons successivement, sous ce titre, les *réactions de fermentation des sucres*, la *réaction d'oxydase*, l'*existence des autres diastases* qui complètent l'équipement enzymatique du gonocoque et enfin, pour terminer, la *réaction d'alcali-solubilité*.

FERMENTATION DES SUCRES

Les réactions de fermentation des sucres sont restées pendant longtemps la base de la classification bactériologique et le principal moyen d'identification. Ainsi les propriétés fermentatives du gonocoque ont-elles été bien étudiées et il est de notion classique qu'il *fermente le glucose et seulement ce sucre*.

Voici, d'après CARPENTER, les fermentations différentielles des principaux diplocoques gram-négatifs :

	GLUCOSE	LACTOSE	SACCHAROSE	MALTOSE	LÉVULOSE
N. Gonorrhoeae .	+	—	—	—	—
N. Intracellularis	+	—	—	+	—
N. Catarrhalis ...	—	—	—	—	—
N. Sicca	+	—	+	+	+
N. Flava	+	—	—	+	+

Cette action sur le glucose est d'ailleurs parfois assez difficile à mettre en évidence. Il faut tout d'abord avoir réussi à obtenir une culture pure, ce qui n'est pas toujours aisément réalisable. Il faut ensuite ensemencer largement sur ce milieu sucré à 1 % contenant un indicateur coloré et de l'ascite de bonne qualité, afin d'obtenir un pousse suffisamment abondante pour provoquer un changement de coloration qui soit visible. Malgré ces précautions, il arrive bien souvent que la réaction soit douteuse.

Cette propriété de fermenter le glucose et seulement ce sucre n'est pas immuable pour toutes les souches et on observe, bien qu'assez rarement, des variations

Ces variations peuvent se faire en plus et on a décrit des gonocoques fermentant d'autres sucres que le glucose. Les principaux défenseurs de cette position se recrutent parmi les auteurs qui ont décrit des gonocoques anormaux dans leur morphologie et leur coloration. Ces formes altérées ou involutives s'accompagnaient en règle générale de fermentations très anormales et toutes ces déviations accumulées ont fait planer un doute sur l'exactitude des faits avancés, à tel point que tous ces travaux sont tombés dans l'oubli. Beaucoup plus importante est l'opinion de DEBRÉ et PARAF (1934) qui affirment que certains gonocoques peuvent fermenter le glucose et le maltose, d'autres le maltose seulement.

Mais, ce qu'on observe beaucoup plus fréquemment, c'est la *perte du pouvoir fermentatif du glucose*. Ces faits ont été observés notamment par MORTON (76) qui, sur cent trente-cinq exa-

mens de blennorragiques, trouve trois fois des gonocoques qui poussent mal et ne fermentent pas le sucre. Après repiquage, les colonies sont normales et le germe a repris son pouvoir fermentatif habituel.

Reyn (89) a trouvé, en deux ans, quarante-trois souches qui n'attaquent pas le glucose. Sur ces quarante-trois souches, neuf qui ont donné de très fines colonies en première culture, poussent largement et fermentent le glucose dès le repiquage. Sur les trente-quatre restantes, qui ont bien poussé dès l'isolement, cinq fermentent le glucose après quelques repiquages et après un an et demi de traitement par congélation sous vide, neuf souches sont mortes, sept fermentent le glucose, mais treize persistent à ne pas attaquer ce sucre. Pourtant, toutes ces souches, étudiées notamment par des épreuves de séro-agglutination, sont des gonocoques vrais.

La fermentation des sucres n'est donc pas un critère aussi valable que le voulait la bactériologie classique et Debré et Paraf vont jusqu'à dire qu'il existe de telles variations que la recherche de l'action du gonocoque sur les sucres perd tout intérêt.

Cette opinion parait outrancière mais cependant l'absence de spécificité absolue et surtout la difficulté pratique réelle des fermentations sucrées ont fait abandonner cette méthode d'identification au profit d'autres comme la réaction d'oxydase que nous allons maintenant envisager

LA RÉACTION D'OXYDASE

La propriété du gonocoque d'intervenir dans les réactions d'oxydo-réduction, grâce à une *oxydase*, mérite une attention particulière, car elle est à la base d'un test pratique qui a, en fait, modifié complètement le problème de la culture du gonocoque appliquée à la clinique.

Les auteurs qui ont le mieux étudié cette question et en ont compris les premiers toute la portée pratique sont Gordon et Mac Léod (40) dont le travail remonte à 1928. Le principe initial, cependant, ne fut pas découvert par eux, mais par Schultze en 1910. Ce dernier décrivit en effet à cette date, un

milieu contenant 0,25 % d'alphanaphtol et de chlorhydrate de diméthylparaphénylènediamine, de couleur bleu clair lorsqu'il est frais.

Si on ajoute à ce milieu un oxydant, par exemple, le ferrocyanure de potassium, il y a production de bleu d'indophénol qui se traduit par un changement de coloration et le milieu devient noir bleuté. SCHULTZE découvrit que le même phénomène se produisait si on ajoutait au milieu, à la place d'un oxydant, une suspension de certaines bactéries. Par une méthode très voisine, il semble d'ailleurs que DIETRICH et LIEBERMEISTER dès 1902 aient découvert des granulations oxydantes dans le staphylocoque.

Ces travaux de SCHULTZE furent repris et confirmés deux ans plus tard par KRAMER.

GORDON et MAC LÉOD, à leur tour, travaillant avec la technique de KRAMER obtiennent les mêmes résultats et classent les germes suivant leur réaction d'oxydase : le staphylocoque, le streptocoque le pneumocoque, le bacille diphtérique, *brucella melitensis*, le colibacille et les bacilles dysentériques sont *oxydase-négatifs;* par contre, le *b. subtilis*, le vibrion cholérique sont légèrement *oxydase-positifs*, mais les réactions les plus fortes s'observent avec les *Neisseria* avec un maximum pour le gonocoque.

Ces auteurs font dépendre la réaction, de la présence, dans la cellule bactérienne, à la fois d'un péroxyde et d'une péroxydase.

En pratique, il suffit de répandre ou de pulvériser sur le milieu une *solution de* 1 *à* 1,5 % *de chlorydrate de diméthylparaphénylènediamine*. Instantanément les colonies oxydase-positives deviennent roses, puis marrons et cette coloration fonce, petit à petit, pour arriver à une teinte franchement noire en dix à trente minutes. A ce moment les germes sont tués.

Ces mêmes auteurs ont essayé sans succès d'incorporer ce réactif coloré au milieu de culture, car le produit est toxique pour les germes ensemencés. Plus tard (69) ils préconisèrent, à la place du composé diméthylé, le composé tétraméthylé qui donne une réaction plus nette et ne tue pas les germes avant trente minutes. Cependant, LEAHY et CARPENTER restent fidèles

au composé diméthylé qui est vingt fois moins cher que l'autre et a l'avantage de ne pas colorer le milieu.

Comme tous les phénomènes biologiques, cette réaction n'est pas exempte de certaines causes d'erreur.

Il existe, tout d'abord, des gonocoques qui ne donnent pas la réaction, mais leur nombre est restreint. Thayer, Schubert et Bucca (99) ont en effet observé que le test d'oxydase est assez souvent négatif sur certains milieux (milieu de Huffer-Hill : gélose chocolat cystiné, ou milieux glucosés) On peut faire disparaitre ces fausses réactions négatives en neutralisant le réactif, en général à pH 4,5, par du carbonate de sodium ou en tamponnant les milieux glucosés au moyen de phosphates.

A l'inverse de ces gonocoques qui ne réagissent pas, il existe des germes oxydase-positifs qui ne sont pas des gonocoques. Thompson en 1927 sur 1.100 cultures a trouvé onze fois de telles colonies : deux fois *N. Catarrhalis*, une fois *N. Flava*, une fois *hémophilus influenzae* et six fois un diplobacille gram-négatif non identifié.

Thayer, Schubert et Bucca, sur 2.400 cultures, n'ont trouvé aucune colonie de *N. Catarrhalis*, ni de *N. Intracellularis; par* contre, ils trouvent assez fréquemment des colonies oxydase-positives qui sont constituées pour la plupart de grands bacilles gram-positifs.

En résumé, on voit donc que la réaction d'oxydase, facile à pratiquer, est très rarement mise en défaut et qu'on peut tenir pour négligeable la proportion des causes d'erreur, à condition de toujours vérifier par un gram qu'il s'agit bien de diplocoques gram-négatifs ayant la morphologie du gonocoque en culture. Il ne reste plus, en effet, comme erreurs possibles que celles dues à laprésence des autres *Neisseria* qui sont absolument exceptionnelles dans les prélèvements uro-génitaux, comme nous venons de le voir.

L'application de cette technique a rendu possible une identification simple du gonocoque et ce n'est que depuis lors que la culture en vue du diagnostic de la blennoragie a pu se généraliser et entrer dans la pratique courante.

EQUIPEMENT ENZYMATIQUE

Nous serons beaucoup plus bref sur ce sujet qui est, d'ailleurs, assez mal connu, si l'on excepte l'indophénoloxydase, base de la réaction de Gordon et Mac Léod et qui interviendrait également avec d'autres enzymes dans la métabolisation du glucose par le gonocoque.

Ce germe possède, en outre, certainement, une catalase, une peroxydase et des phosphatases. Par contre, l'existence d'une hyaluronidase n'est pas absolument démontrée.

TEST D'ALCALI-SOLUBILITÉ

Il s'agit là d'une méthode complémentaire d'identification du gonocoque décrite par Cantor, Shelanski et Willard (14) en 1942. On procède de la manière suivante : la culture provenant d'une colonie oxydase-positive est émulsionnée au centre d'une lame avec 0,2 cc. d'eau. Une anse de cette émulsion est portée à droite et à gauche de la lame. A gauche on ajoute deux anses d'eau pour servir de témoin, tandis qu'à droite on ajoute une anse de NaOH N/10 que l'on laisse agir trente secondes à une minute. Passé ce temps, on neutralise par une anse de HCl N/10. La lame est ensuite colorée au gram et on compare les trois préparations. Pour pouvoir affirmer qu'il s'agit de gonocoque, il faut trouver sur la préparation centrale des diplocoques gram-négatifs, sur la préparation de gauche les mêmes germes dont on appréciera le degré d'autolyse et le nombre approximatif, et sur la préparation de droite une lyse à peu près totale.

Cette alcali-solubilité du gonocoque avec la soude N/10 le différencie des autres *Neisseria* qui ont une alcali-solubilité négative.

Cette méthode serait sujette à de nombreuses causes d'erreurs selon Sylvestre et Beauregard (96).

PROPRIETES ANTIGENIQUES

L'exposé des propriétés antigéniques du gonocoque nous retiendra beaucoup moins longuement que celui des propriétés biochimiques, à la fois et surtout, parce que cet aspect de l'étude bactériologique du germe s'éloigne du cadre que nous nous sommes tracé, mais aussi parce qu'il reste encore de nombreux problèmes non résolus.

On sait depuis longtemps qu'il existe une *toxine gonococcique*. On crut, tout d'abord, qu'il s'agissait d'une exotoxine, comme le pensait De Christmas, mais les travaux de Wassermann montrèrent qu'il s'agissait d'une *endotoxine* contenue dans les corps microbiens.

L'inoculation de cette toxine gonococcique provoque, par injection sous-cutanée chez le lapin, une inflammation locale énorme avec fièvre, amaigrissement et mort par cachexie. L'injection urétrale reste sans effet chez les animaux, alors qu'elle provoque chez l'homme un écoulement purulent, douloureux, amicrobien. L'injection intra-cérébrale de la toxine chez le cobaye le tue en cinq à dix heures à la dose de 1/100 ou 1/1000 de centimètre cube.

Nous avons vu, au chapitre de la constitution biochimique, que cette toxine était liée aux fractions protidiques du germe sans qu'il soit possible d'apporter plus de précision malgré les nombreux travaux effectués.

Dans ce chapitre nous avons vu que, parmi les fractions hydrocarbonées, un polysaccharide spécifique de type avait été isolé par Casper. Cet antigène serait responsable de certaines réactions cutanées, notamment celles qui ont été étudiées par Barbellion et Feld (7).

Le gonocoque, dont on connait mal, nous venons de le voir, la constitution antigénique, se révèle posséder un *mauvais pouvoir provocateur d'anticorps*. C'est ce qui explique, malgré de nombreux travaux, comme par exemple celui de Laquièze (Toulouse 1922), les résultats relativement peu encourageants obtenus par la vaccinothérapie spécifique, aujourd'hui presque complètement éclipsée par l'usage des antibiotiques. Peut-être, d'ailleurs, peut-on espérer, lorsque les antigènes seront plus

nettement isolés et définis, améliorer ce pouvoir. Pour le moment il n'en est pas encore ainsi et il a été impossible de faire une classification sérologique des divers gonocoques comme on l'a réalisé pour les streptocoques, les pneumocoques ou les *Salmonella*.

Si l'on excepte les réactions cutanées, dont la pathogénie est encore mal élucidée et dont nous parlerons seulement dans la deuxième partie clinique de notre travail, les seules réponses de l'hôte à l'antigène gonococcique sont des *agglutinines* et des *sensibilisatrices*.

Les *agglutinines* peuvent servir à l'identification du gonocoque par *séro-agglutination*. Cette méthode est cependant peu employée en pratique parce que le gonocoque ne donne que très difficilement des émulsions homogènes et que les immun-sérums sont faiblement agglutinants. De plus, il se surajoute des phénomènes d'agglutination croisée avec le méningocoque, dont il faut tenir compte s'il s'agit d'un gonocoque isolé d'une localisation extra-génitale.

La méthode de Porges, pour améliorer l'agglutination du gonocoque, dont pourtant Nicolle avait obtenu de bons résultats, ne parait pas, selon Bergé (9), apporter d'amélioration.

Bonnefoi, Grabar et Le Minor (11) utilisent cependant la séro-agglutination, et prétendent qu'il existe deux catégories sérologiques de gonocoques : les germes isolés de blennorragie aigüe, qui sont agglutinés par les sérums préparés à partir de souches jeunes et les germes de blennorragie chronique, agglutinés par les sérums préparés à partir de souches de collection.

Par opposition aux agglutines, qui servent peu au diagnostic, les *sensibilisatrices* développées dans les humeurs des sujets atteints de gonococcies sont utilisées largement dans la *gonoréaction* ou *séro-réaction blennorragique* qui est une réaction de déviation du complément.

Celle-ci peut se pratiquer sur le liquide céphalo-rachidien comme l'a montré Gadrat (36) qui aboutit à la conclusion « qu'une séro-réaction blennorragique positive dans le L. C. R. donne trois chances contre une d'avoir affaire à la blennorragie

et pas davantage ». Cette recherche a été pratiquement abandonnée.

C'est essentiellement sur le sérum sanguin que se pratique la gono-réaction. La première application de la découverte de Bordet et Gengou au diagnostic de la blennorragie fut faite par Müller et Oppenheim en 1906. Ensuite les travaux se succédèrent et il faut citer en 1934 l'excellente thèse de Rème (88). Depuis, de nombreux perfectionnements ont porté sur les modalités techniques de la réaction et sur la préparation des antigènes.

Nous n'entrerons pas dans l'exposé des techniques de la gono-réaction, car il s'agit d'une question trop importante et trop en dehors de notre sujet. Nous nous bornerons, simplement, dans la partie clinique de ce travail, à envisager ce que le clinicien peut attendre de la séro-réaction blennorragique.

CHAPITRE IV

Travail personnel

Reprenant le plan que nous venons de suivre dans les chapitres précédents, nous exposerons notre travail en trois parties : la *culture du gonocoque*, tout d'abord, en étudiant successivement la composition du milieu et les conditions d'incubation; ensuite, l'application à l'identification du germe de *la réaction d'oxydase* controlée par le gram, et enfin, *les résultats* que nous avons obtenus.

LA CULTURE DU GONOCOQUE

La première difficulté qui s'est présentée est celle du choix du milieu. Dans un temps préliminaire, pour nous familiariser avec la culture du germe et ses conditions particulières, nous avons usé d'un milieu simple et facile à préparer : la *gélose au sang*. Nous employions indifféremment du sang de mouton ou du sang de cheval. Il y a une grosse critique à faire à ces milieux au sang, c'est leur opacité qui est très gênante pour observer un germe dont les colonies sont, en règle générale, petites et transparentes. De plus, et c'est là l'nconvénient majeur à notre avis, la réaction d'oxydase est sur de tels milieux difficile à observer et on risque de laisser passer des colonies oxydase-positives même après une observation soigneuse.

La lecture de la littérature américaine nous a rapidement permis de nous orienter vers le milieu de Peizer et Steffen. Celui-ci est en effet relativement simple par rapport à beaucoup de

ceux qui ont été décrits, et les auteurs qui l'ont utilisé lui accordent dans la hiérarchie des valeurs une place prépondérante. Torrés (100), Trowbridge et Mac Conkey (101) le trouvent très supérieur à la gélose au sang et à la gélose chocolat. Schubert, Buccà et Thayer (93) obtiennent avec lui 99,3 % de résultats positifs. Enfin, Weller et Williams (105), après étude comparative, classent en tête de plusieurs milieux celui de Peizer et Steffen modifié par l'usage du sang humain. Ils donnent 96 % de résultats positifs sur ce milieu, contre 90 % sur le milieu de Mueller et Hinton.

Nous avons donc adopté pour base de notre travail le milieu de Peizer et Steffen, qui est d'ailleurs celui qu'utilisent à Paris Debray et Le Minor.

Cependant, nous n'avons pas entièrement suivi la formule des auteurs américains.

Notre milieu, en effet, semblable sur ce point à celui de l'Institut Pasteur, ne contient pas de bleu de Nil A. Nous avons déjà vu plus haut les opinions opposées soutenues à ce sujet par les auteurs sur l'intérêt des antiseptiques; d'un autre côté, notre expérience personnelle nous a souvent montré que les germes d'infection secondaires favorisaient la pousse du gonocoque au lieu de la gêner et, pour ces raisons, notre milieu ne contient pas d'antiseptique.

Les chercheurs de l'Institut Pasteur ont ajouté à leur milieu de l'*acide paraminobenzoïque*, comme antisulfamide, et de la *pénicillinase*. Nous n'avons pas cru nécessaire de faire de même, car cela introduit une complication supplémentaire dans la fabrication du milieu, alors qu'il est beaucoup plus simple d'attendre vingt-quatre heures sans traitement dans le cas où ces antibiotiques auraient été administrés. On peut, d'ailleurs, se demander si le colibacille, très fréquent sur les prélèvements génito-urinaires féminins, ne suffit pas à lui seul, par la pénicillinase qu'il produit, à inhiber l'action d'une éventuelle pénicillothérapie.

Le deuxième point sur lequel notre milieu diffère de celui décrit par Peizer et Steffen, est celui du choix du sang. Les auteurs américains utilisent du sang de cheval, mais, pour des raisons de commodité, nous avons employé du sang humain. Nous nous sommes servi, comme Trowbridge et Mac Conkey

(101), de sang citraté humain prélevé et stocké dans un centre de transfusion. Qu'il nous soit permis de remercier ici le Centre Régional de Transfusion Sanguine de Purpan, pour l'aide qu'il nous a apportée en nous fournissant gracieusement du plasma humain et des globules séparés par décantation.

Voici avec quelques détails, le mode de fabrication que nous avons suivi.

La partie gélosée du milieu est faite suivant les proportions déjà indiquées :

Peptone Chapoteaut	20 gr.
NaCl	5 gr.
Gélose	25 gr.
Eau	1.000 cc.

Le pH est ajusté à 7,4 au moyen de phosphate disodique.

Le milieu ainsi préparé est réparti en ballons de 150 cc. et autoclavé à 120° pendant quinze minutes.

Plus délicate est la préparation de la deuxième partie, liquide, du milieu, car, en raison des manipulations multiples qu'elle impose, les risques de souillure sont importants. Nous avons ainsi procédé.

Dans un ballon de 250 cc. repéré à l'avance d'un trait au niveau de 81 cc., nous avons mis 20 cc. de solution de Po^4Na^2H à 15 % et 1,40 cc. de glucose à 30 %. Ce ballon a été ensuite stérilisé à l'autoclave en prenant la précaution de ne pas dépasser 110° pour éviter la caramélisation du glucose. Il faut, ensuite, introduire le plasma. Ce dernier, venant, nous l'avons dit, d'un centre de transfusion, se présente dans la bouteille spéciale que nous montons avec le filtre à air et la tuyauterie stérile qui lui sont annexés. Il est ainsi très facile d'ajouter dans le ballon, contenant déjà phosphate et glucose, le plasma jusqu'au niveau du trait repère.

Par ailleurs, des ballons de 150 cc. ont été remplis de 95 cc. d'eau distillée et stérilisés à l'autoclave. Les globules, contenus dans une bouteille du centre de transfusion, sont prélevés par ponction stérile avec une seringue du type à hémoculture à travers le bouchon de caoutchouc. 5 cc. de globules rouges sont introduits dans l'eau distillée et s'hémolysent tout de suite.

Avant de mélanger le contenu des deux ballons, un échantillon de chacun est ensemencé en bouillon glucosé. Si ces deux tubes sont stériles, les deux constituants, qui sont restés quarante-huit heures à la glacière, sont mélangés en portant à la pipette la solution d'hémoglobine dans le ballon contenant le plasma phosphaté-glucosé.

Le milieu liquide définitif est alors constitué et on peut répartir le contenu du ballon dans quatre tubes, repérés à l'avance au niveau de 45 cc. Une vérification finale est faite en ensemençant un échantillon de chaque tube.

Toutes ces opérations peuvent paraître compliquées, mais c'est la seule méthode qui nous ait donné des résultats satisfaisants, en évitant les souillures qui furent, avant son adoption, la cause de nombreux échecs.

Dans la pratique nous avons fait avec un seul échantillon de sang, quatre ballons de 250 cc., ce qui correspond à seize tubes. Ces derniers se sont très bien conservés à la glacière pendant quatre mois.

Suivant les besoins, un ballon de 150 cc. de gélose est fondu puis refroidi à 55°-60°, température à laquelle on ajoute le contenu d'un tube. On peut, avec ces quantités, préparer dix à douze boites de Pétri. Après vérification de stérilité, par séjour de dix-huit heures en étuve, les boites sont mises à la glacière où elles se conservent facilement une semaine.

Au début, pour vérifier la valeur de notre milieu, nous avons fait des ensemencements comparés avec le milieu que commercialise l'Institut Pasteur. Les résultats ont été aussi bons sur notre milieu, avec même quelquefois une supériorité assez nette qui tient, selons nous, au fait qu'un milieu fraichement préparé donne des résultats forcément meilleurs que ceux d'un milieu qui a pu être stocké plus ou moins longtemps.

La boite est mise à l'étuve suffisamment à l'avance pour être chaude au moment de l'ensemencement.

L'incubation est réalisée dans une étuve qui a été réglée pour obtenir une température qui varie entre 35° et 36°. Dans cette étuve se trouve à demeure un exsiccateur en verre du type dont on se sert habituellement en anatomie pathologique. La partie inférieure est occupée par un large coton imbibé d'eau. Dans la

chambre supérieure sont disposées les boites et une bougie que l'on a allumée. Le couvercle assure une étanchéité otale par une large surface en verre rodé enduite de vaseline; il porte à sa partie supérieure une tubulure munie d'un robinet. Ce robinet est ouvert tant que la bougie brûle et on le ferme dès que celle-ci s'éteint Les boites sont laissées dans l'étuve quarante-huit heures.

Au début, suivant la technique de Le Minor (62), nous avons laissé les boites vingt-quatre heures en atmosphère renforcée en CO^2 et vingt-quatre heures en atmosphère ordinaire. Ensuite, lorsque cela fut possible, car l'exsiccateur ne contenait que cinq boites de Pétri, nous avons pris l'habitude de les laisser quarante-huit heures en CO^2 et il nous a semblé que les résultats obtenus étaient légèrement supérieurs.

LA REACTION D'OXYDASE

Le produit réactif utilisé est le *chlorhydrate de diméthylparaphénylènediamine*, le seul, d'ailleurs, que l'on trouve facilement en France (1). C'est un produit qui se présente en petits grains grisâtres, irréguliers, très légers, facilement réductibles en poudre.

La préparation de la solution à 1 % devant se faire extemporanément, le produit est réparti en fragments de 1 centigramme dans des tubes à hémolyse bien bouchés, car il est très hygroscopique et s'altère quand il est humide. La solution est préparée avant l'emploi en mettant 1 cc. d'eau dans chaque tube. Le produit se dissout facilement et la solution, incolore au début, devient rose en quelques minutes. Il nous est arrivé d'utiliser quelquefois des solutions vieilles de vingt-quatre et même quarante-huit heures. La solution, devenue beaucoup plus foncée, tendant vers le rouge-noir, nous a cependant permis d'obtenir de bons résultats. Si l'on attend plus longtemps, la solution s'oxyde complètement et devient franchement noire Elle est alors inutilisable.

(1) Ce produit est commercialisé par la maison Prolabo,

La solution, ainsi préparée, est répandue sur le milieu grâce à un pulvérisateur nasal en verre, et avec 1 cc. on peut pulvériser quatre à cinq boites. Cette manière de faire nous donne d'excellents résultats, mais elle est déconseillée par TROWBRIDGE et MAC CONKEY (101) car le produit est, parait-il, caustique et peut provoquer de sévères dermatites lors d'un emploi intensif.

Après avoir pulvérisé le produit à la surface du milieu, on observe la boite soit directement, soit par transparence. On peut alors voir plusieurs réactions.

Certaines colonies, de petite taille, jusqu'à 1 mm. au maximum, régulièrement rondes, saillantes et luisantes, deviennent roses instantanément. D'un rose assez spécial, violacé, dont le ton devient ensuite moins vif, pour arriver à la couleur marron qui est atteinte en deux ou trois minutes. A partir de ce moment, la couleur fonce progressivement jusqu'au noir franc qui est atteint en dix ou quinze minutes en général.

D'autres colonies, plus larges, de 2 mm. environ, plates, à centre acuminé, de couleur grisâtre et non luisantes deviennent également rose instantanément, puis pâlissent, sauf une bordure marron à la périphérie et un point marron central, l'ensemble réalisant un aspect en cocarde atteint en deux à trois minutes. La zone claire intermédiaire fonce plus lentement et toute la colonie finit par avoir une coloration noire homogène qui est réalisée en trente à quarante-cinq minutes.

Ces deux types de colonies, après vérification par le gram, ont toujours correspondu à des *Neisseria*.

La réaction d'oxydase permet d'observer très facilement les groupements particuliers de certaines colonies de gonocoques, au voisinage ou au contact de colonies de germes secondaires, principalement de staphylocoques.

Tout d'abord, on observe presque toujours chez la femme que le gonocoque pousse au milieu de nombreuses colonies de staphylocoques sans paraître autrement gêné. Les colonies sont simplement très petites, du type minute.

Mais il est beaucoup plus intéressant de voir des colonies oxydase-positives qui mordent sur de grandes colonies blanches de staphylocoques, l'ensemble réalisant toutes les images possibles de cercles séquants ou tangents, extérieurement ou intérieu-

rement. Nous avons souvent observé des colonies oxydase-positives qui formaient ainsi une couronne de trois ou quatre éléments mordant sur une colonie de staphylocoques blancs. Quelquefois même, des colonies oxydase-positives se trouvent isolées au sein d'une colonie de staphylocoques. Enfin, une fois, chez une femme prostituée, d'apparence saine, dont les frottis avaient été négatifs, nous n'avons trouvé qu'une seule colonie oxydase-positive qui se trouvait justement empiéter sur une colonie de staphylocoques.

Dans tous les cas, ces colonies, fortement oxydase-positives étaient des colonies de gonocoques..

Ces observations nous font donc considérer comme certain le rôle favorisant de quelques germes d'infection secondaire, staphylocoques blancs en premier lieu et, plus rarement, diphtérimorphes. Nous rejoignons ainsi l'opinion de nombreux auteurs et nous ne pouvons qu'admirer les observations très précises que Giscard a faites de ces phénomènes à une époque où le test d'oxydase n'était pas encore employé.

Nous venons de décrire les réactions nettes, indiscutables, qui, toutes les fois, nous ont montré des gonocoques.

Il existe, cependant, des cas douteux.

Nous ne nous sommes trouvé qu'une fois devant une siuation qui mérite véritablement cet adjectif. Il s'agissait d'une prostituée, cliniquement saine, à frottis négatifs, dont les cultures, à deux reprises, nous fournirent les résultats suivants : réaction d'oxydase immédiate, avec virage au rose qui faiblit tout d'abord et devient peu à peu gris foncé. Cependant, la colonie, que nous n'avions pas remarquée à l'examen de la boite avant pulvérisation de paraphénylènediamine, nous apparait très plate, étalée à la surface du milieu sur lequel elle ne fait pas de saillie visible. De plus, avec le temps, la coloration obtenue est un gris foncé qui ne devient pas franchement noir. Le gram, pratiqué pour vérification, nous a montré de gros diplocoques, allongés dans le sens transversal, gram-négatifs, avec certains éléments gram-douteux, ou même faiblement gram-positifs, l'ensemble de ces caractères s'éloignant de ceux du gonocoque habituellement observés en culture. Une identification plus complète n'a pas pu être obtenue.

A côté de ce cas, véritablement embarrassant, nous avons appris à connaître de fausses réactions positives.

Nous voulons parler de certaines colonies qui ne deviennent pas instantanément rose, mais qui prennent lentement une coloration gris-rosée, qui s'accentue plus ou moins à mesure que le temps passe. Le gram, pratiqué sur ces colonies, ne nous a jamais montré de gonocoques, mais des germes variés, diphtérimorphes, anthracomorphes, petits bacilles gram-négatifs.

Enfin, on observe parfois, des virages tardifs et, lorsqu'on examine les boites six à huit heures après pulvérisation, on peut voir des colonies franchement noires, alors qu'il n'y avait eu aucune modification immédiate de coloration.

Le gram, sur ces colonies, ne nous a jamais permis de voir des gonocoques, mais, le plus souvent, de petits bacilles gram-négatifs (observations semblables dans le livre de Kolmer (56).

La réaction d'oxydase que nous venons de décrire dans ses différentes modalités est donc d'un énorme intérêt pratique. Elle permet de repérer très facilement les colonies de gonocoques que nous sommes encore incapable de reconnaître à l'examen direct lorsqu'elles sont rares et perdues au milieu de la foule des colonies de contaminants. Rappelons, à ce sujet, que Giscard recommandait, pour éviter des erreurs par défaut, d'examiner les colonies qui ressemblaient à celles du gonocoque et même les autres, ce qui constituait, de son propre aveu, une très grande difficulté pratique qui est aujourd'hui complètement écartée.

Comme nous venons de le dire, nous avons toujours pratiqué une coloration de Gram sur les colonies oxydase-positives, et, pour affirmer le gonocoque, nous exigeons les caractères morphologiques et tinctoriaux classiques du germe en culture, tels que nous les avons décrits dans le premier chapitre. La coloration de Gram, pratiquée même après que la colonie ait été traitée par le paraphénylènediamine depuis plusieurs heures, ne nous a jamais paru modifiée. Simplement, dans ces cas, la colonie est très difficile à émulsionner et à étaler sur la lame pour obtenir une préparation convenable.

Mais, nous n'avons pas poussé plus loin la caractérisation du

gonocoque. Nous avons cru pouvoir nous contenter de cette manière d'agir en nous référant aux travaux des auteurs qui ont pratiqué des identifications complètes par les fermentations sucrées et, parfois, les réactions sérologiques et qui ont conclu, sur de très nombreuses cultures, à la valeur spécifique suffisante (1 % d'erreurs au maximum) de la réaction d'oxydase lorsqu'elle est appliquée à des germes provenant d'un prélèvement génito-urinaire et vérifiée par le gram (Mac Léod (69), Sylvestre et Beauregard (96), Le Minor (62), Leahy et Carpenter, Thompson, etc....).

Il y a, cependant, des opinions discordantes, notamment celles de Trowbridge et Mac Conkey (101) et de Coleman (20) qui recommandent de faire, dans tous les cas, les fermentations sucrées.

Nous avons adopté les conclusions des auteurs cités en premier lieu pour garder à la méthode ce qui est son principal intérêt : sa valeur pratique qui nous a permis de réaliser tout notre travail au laboratoire de la Clinique Dermatologique.

LES RESULTATS

Nous avons pratiqué cent vingt-et-un frottis et cultures tant chez des hommes que chez des femmes.

Dans vingt cas, le gonocoque a été trouvé sur les lames et les cultures correspondantes ont été dix-huit fois positives et deux fois négatives, ce qui donne un pourcentage d'erreur de 1,6 %. Dans les deux cas où la culure fut défaillante il s'agissait d'hommes préalablement traités, à gonocoques rares et, peut-être tués. Mais surtout, ces échecs se sont produits au début de notre travail, quand nous n'étions pas familiarisé avec les difficultés de la culture du gonocoque et que nous employions simplement la gélose au sang. Sur milieu de Peizer et Steffen, tel que nous l'avons décrit, nous n'avons plus enregistré un seul échec.

Dans 10 cas de frottis douteux, nous avons trouvé trois fois une culture positive et sept fois une culture négative.

Dans les quatre-vingt-onze cas restants, de frottis négatifs, (après examen attentif de dix minutes pour chaque lame) nous

avons trouvé dix-huit fois une culture positive, deux fois une culture douteuse et soixante et onze fois une culture négative.

Les avantages et les inconvénients comparés des examens directs sur lame et des cultures peuvent être schématisés dans le tableau suivant :

	ÉCHECS		CAS DOUTEUX		CAS POSITIFS	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Lames.....	18	14,8	10	8,2	20	16,5
Cultures.....	2	1,6	2	1,6	39	32,2

Ces chiffres se passent, à notre avis, de commentaires et le faible pourcentage des erreurs, encore réductible par une meilleure technique, le faible pourcentage également des cas douteux, joint au fait que les résultats positifs sont doublés, démontrent, clairement, la supériorité incontestable de la culure sur les examens directs.

En conclusion de cette première partie de notre travail, où nous avons envisagé le gonocoque et sa culture du double point de vue théorique et pratique, il nous paraît intéressant de souligner l'opposition qui existe entre les données, encore fragmentaires et souvent imprécises, de la connaissance scientifique du diplocoque de Neisser et la réelle valeur de l'application à la routine bactériologique quotidienne de certaines de ces données.

D'une part, en effet, nous avons vu à quel point le gonocoque reste mal connu : sur certains points de la morphologie même, l'incertitude règne et on ne sait pas exactement quelle est l'unité microbienne; mais l'inconnu devient plus grand encore quand on aborde les problèmes complexes, tels que la constitution chimique, l'équipement enzymatique et la composition antigénique.

Contrastant avec ces imprécisions, le laboratoire courant

connait bien, à l'heure actuelle, les conditions de culture et les milieux qui permettent une pousse favorable et relativement facile du gonocoque, en même temps qu'il possède, avec la réaction d'oxydase contrôlée par la coloration de Gram, une méthode facile et satisfaisante d'identification.

Ce sera l'objet de la suite de notre travail d'étudier les progrès que de telles améliorations techniques vont permettre au clinicien dans le diagnostic difficile de la blennoragie chez la femme.

DEUXIÈME PARTIE

La Culture du Gonocoque dans la Blennorragie féminine

Nous avons déjà dit que, très tôt, l'idée est venue aux médecins d'améliorer le diagnostic de la blennorragie en essayant de cultiver les prélèvements négatifs à l'examen direct. Mais, en raison des difficultés rencontrées pour faire pousser le gonocoque, les opinions furent, tout de suite, divergentes entre les partisans et les adversaires de la méthode.

Les cultures furent cependant appliquées chez l'homme, où elles sont moins difficiles que chez la femme, autour des années 1925-1930, et à cette époque on pratiqua beaucoup de spermocultures. Les résultats furent tellement contradictoires que la méthode fut bientôt discréditée et on ne discuta plus en France le principe de la supériorité des examens directs sur les cultures qui étaient trop difficiles et trop sujettes aux erreurs. Cette opinion, établie au sujet des blennorragies masculines, était à plus forte raison valable pour les blennorragies de la femme.

Mais, à l'étranger, beaucoup de travaux se succédèrent sur ce sujet, apportant la réaction d'oxydase, la codification des conditions de culture et la connaissance de milieux très satisfaisants, tous perfectionnements qui furent appliqués au diagnostic de la blennorragie. Ces recherches et leurs résultats restèrent malheureusement ignorés en France : Congrès de Gynécologie de 1932 (70), travaux de Barbellion (5), Congrès de Gynécologie de 1938 qui fait une discrète allusion à la réaction d'oxydase, mais

ne semble pas en avoir saisi toute l'importance, travail de BERGÉ en 1939 (9) qui, malgré une documentation très approfondie, n'en parle même pas. Il faut attendre 1947 et la reprise des contacts avec le monde Anglo Saxon pour que la culture du gonocoque appliquée au diagnostic de la blennorragie s'implante en France avec les travaux de DEBRAY et LE MINOR.

Mais, alors que les premiers travaux s'intéressaient surtout aux urétrites chroniques de l'homme, à l'heure actuelle la culture du gonocoque est appliquée, de préférence, à la blennorragie féminine. La raison en est fournie par l'apparition des sulfamides et, plus encore, de la pénicilline qui ont complètement modifié le problème de la gonococcie.

Chez l'homme, la blennorragie aiguë demeure, dont le diagnostic est fait facilement par l'examen des lames; mais, dès les premières manifestations symptomatiques bruyantes, la pénicillothérapie est instituée et apporte la guérison en quelques heures dans plus de 90 % des cas. De ce fait, la blennorragie chronique de l'homme a pratiquement disparu.

Chez la femme, le problème a été beaucoup moins modifié par l'apparition des antibiotiques : la blennorragie aiguë est l'exception, alors que les formes subaiguës, ou chroniques d'emblée, sont la règle. Le diagnostic, le plus souvent tardif en raison des symptomes très atténués, est resté difficile et la culture est susceptible d'apporter une aide précieuse. De plus, chez la femme, les nombreux repaires où le gonocoque s'enkyste sont mal atteints par la pénicilline et les formes chroniques récidivantes sont loin d'avoir disparues.

C'est pour ces raisons que nous avons choisi de limiter notre travail à la culture du gonocoque appliquée au diagnostic de la blennorragie féminine.

Cette deuxième partie, essentiellement clinique, sera divisée en *trois grands chapitres* où nous étudierons successivement le *diagnostic* de la blennorragie chez la femme *par les méthodes habituelles*, ensuite l'*aide que la culture peut apporter* à ce diagnostic et, enfin, *les résultats de nos travaux personnels*.

CHAPITRE PREMIER

Les Méthodes habituelles de diagnostic de la Blennorragie Féminine

Les moyens dont dispose le clinicien pour reconnaître la blennorragie chez une femme seront présentés dans quatre rubriques qui feront, chacune, l'objet d'une étude particulière.

Nous envisagerons, tout d'abord, les renseignements apportés par l'*examen clinique,* puis ceux fournis par l'*étude des frottis.* Ces deux paragraphes nous retiendront beaucoup plus longuement que celui où nous envisagerons, ensuite, *les méthodes indirectes de diagnostic.* Enfin, pour terminer, nous soulignerons l'importance des *renseignements épidémiologiques.*

Avant d'entrer dans le détail de notre exposé, qui se limitera à la blennorragie uro-génitale, nous ferons remarquer que nous avons volontairement omis d'envisager l'étude de la vulvo-vaginite des petites filles, qui fait évidemment partie de la blennorragie féminine, mais présente, en fait, des problèmes tout à fait différents.

LE DIAGNOSTIC CLINIQUE DE LA BLENNORRAGIE FEMININE

Chez la femme, comme chez l'homme, il existe une *blennorragie aiguë* dont le riche tableau symptomatique conduit facilement au diagnostic. Mais, à l'inverse de ce qui se passe chez l'homme, cette forme est absolument exceptionnelle.

Elle se voit, en général, chez des femmes jeunes, souvent lors

des premiers rapports, ou chez les jeunes mariées, car il faut, pour qu'elle puisse se produire, un terrain fragile, non préparé par une infection génitale antérieure. Une attaque microbienne massive est la deuxième condition étiologique indispensable.

Lorsque tous les signes sont réunis, l'ensemble est évocateur. Le début, qui se produit de trois à huit jours après le contact infectant, est marqué par un prurit vulvaire qui va s'intensifier rapidement pour aboutir à une sensation de cuisson douloureuse. En même temps, s'installe un écoulement fétide, jaune-verdâtre, épais, tachant et empesant le linge, qui devient vite abondant. La marche est douloureuse. Ces signes s'accompagnent de pollakiurie et de douleurs à la miction, qui n'atteignent jamais cependant celles de l'urétrite masculine. A côté de ces phénomènes urinaires et périnéo-vulvaires, la malade peut ressentir une douleur plus profonde, dans le bas ventre, et plus sourde, avec irradiation dans les cuisses et le périnée qui traduit l'atteinte du col utérin.

Il y a parfois, mais rarement, quelques malaises généraux, dûs à une fièvre légère.

L'examen est riche d'enseignements. Dès que la femme est mise en position gynécologique, on remarque des lésions cutanées, à type d'intertrigo, de la face interne des cuisses et la fente vulvaire apparaît engluée par un pus épais, verdâtre et bien lié. Parfois, une tuméfaction, du volume d'une noix, rouge, chaude et douloureuse, soulève une petite lèvre dans sa partie postérieure et traduit la présence d'une bartholinite aiguë qui siège le plus souvent à gauche. En écartant les lèvres, on voit une muqueuse turgescente, rouge et luisante. L'orifice urétral, qui est lui-même très enflammé, laisse parfois sourdre une goutte de pus verdâtre, que l'on peut ramener par massage urétral, si par hasard elle manquait. Avant de quitter les plans superficiels, il faut examiner l'orifice anal qui est, parfois, excentré avec tuméfaction inflammatoire irrégulière des plis radiés. Cet aspect traduit l'atteinte de l'anus et du rectum par le gonocoque; on la confirmera par la mise en évidence de quelques glaires purulentes. Nous n'avons pas suffisamment, en France, le réflexe d'examiner le périnée postérieur dans la

blennorragie aiguë de la femme et c'est peut-être pour cette raison que l'ano-rectite blennorragique nous paraît rare, alors que les auteurs allemands et anglo-saxons la considèrent comme fréquente : Flugel et Oppenheim, 20 % des cas; Hagerman (42, 17 ‰; Nicol (80), vingt-cinq cas sur soixante-quatorze malades examinées.

La blennorragie peut se limiter à cette atteinte périnéo-orificielle aiguë, mais, en général, le gonocoque a provoqué également une cervicite aiguë accompagnée de vaginite. Dans ce cas, l'introduction du spéculum, qui est parfois impossible avant l'institution du traitement, est toujours excessivement douloureuse. Elle permet de voir un cul de sac vaginal très rouge, tuméfié, parfois granuleux ou recouvert d'un enduit diphtéroïde et un col qui peut revêtir plusieurs aspects.

Le col est en règle générale rouge framboise, augmenté de volume, luisant, œdémateux; parfois, se surajoute sur cet état de la muqueuse un semis périorificiel de petites élevures lenticulaires, rouge cerise, du volume d'un grain de mil, qui souvent déterminent des érosions; chez la nullipare, le col se présente plutôt sous le premier aspect et il a été comparé par Verchère à un pénis de chien; l'endocol est sain. Chez la multipare, par contre, se rencontrent ces granulations lenticulaires de Becquerel en même temps que l'orifice, en général ulcéré, laisse sourdre une grosse larme adhérente de pus vert. Pour terminer l'examen, le toucher vaginal vérifie l'intégrité des annexes et du péritoine.

Mais, parfois, la flambée blennorragique initiale ne s'arrête pas à l'orifice du col et, par voie muqueuse, le gonocoque va envahir l'endomètre, les trompes et, dans quelques cas, le péritoine utérin.

L'endométrite est, en général, perdue dans le tableau clinique et, si elle est isolée, elle ne se remarque guère que par des ménométrorragies. Par contre, la salpingite aiguë se manifeste par des douleurs plus importantes, pelviennes et iliaques, avec des paroxysmes à type de coliques expulsives qui sont suivies d'un écoulement utérin. Il y a toujours des signes généraux qui traduisent la réaction du péritoine : fièvre, nausées, ballonnements. Le toucher vaginal montre un léger empâtement douloureux

para-utérin Il est rare que la blennorragie aiguë entraîne, dès ses premières manifestations, une péritonite aiguë qui peut être généralisée ou rester localisée au petit bassin.

Dans tous les cas où la blennorragie fait un début à grand fracas le diagnostic est facile et la mise en évidence du gonocoque sur les sécrétions purulentes, vulvaires, glandulaires, urétrales ou cervicales, est aisée. Le diagnostic est donc certain et il n'y en a pratiquemment pas d'autres à envisager.

Mais ces formes aiguës sont malheureusement très rares et ceci, qui était déjà vrai à l'époque où JANET, dans son livre, écrivait que « *la blennorragie de la femme est presque toujours chronique* », l'est devenu bien plus encore ces dernières années. Il faut, sans doute, rapprocher ce fait de celui que l'on observe parallèllement chez l'homme où l'on ne voit, pour ainsi dire plus, ces terribles chaudes-pisses russes ou cordées que décrivirent les classiques, et chez qui la blennorragie habituelle semble moins douloureuse qu'autrefois.

Quoiqu'il en soit, ce tableau aigu que nous avons décrit est encore rencontré quelquefois chez la femme, mais d'une manière tout à fait exceptionnelle. Dans la presque totalité des cas, on n'observe aujourd'hui que des formes mineures, torpides, ce que JANET appelait « *les blennorragies discrètes d'emblée* ».

Nous pourrions facilement décrire ces formes et les multiplier en reprenant le tableau aigu et en l'atténuant progressivement jusqu'à une forme asymptomatique où l'examen bactériologique découvrirait des gonocoques. Cette manière synthétique de présenter les choses a été faite par FIGARELLA (35) au Congrès de Gynécologie de 1938. Plutôt que de procéder ainsi, nous préférons adopter une méthode analytique et envisager suivant le plan de l'examen clinique les différents signes que ce dernier recueille et quelle valeur on peut leur accorder pour arriver à étayer raisonnablement un diagnostic de blennorragie.

Que les malades viennent consulter spontanément, ou qu'elles soient amenées au médecin pour quelque raison que ce soit, celui-ci doit commencer son examen par la recherche des *signes fonctionnels*.

Le plus fréquent de tous, mais aussi le plus banal, est la *leucorrhée*. Beaucoup de femmes, surtout celles qui ont eu des enfants, ont des pertes blanches et elles n'y prêtent attention que si elles sont vraiment importantes. Par l'interrogatoire, il faudra essayer de rechercher s'il s'agit de pertes abondantes, si elles sont fétides, si elles tachent le linge et depuis quand elles durent. Tous ces caractères, d'ailleurs, sauf le cas où il s'agit d'écoulement verdâtre abondant, empesant et tachant le linge, n'apportent que bien peu d'indications, car la leucorrhée s'observe dans une foule d'états ou de maladies.

Après la leucorrhée, on se renseignera sur l'*élément douleur*. Il faut rechercher une douleur basse, médiane, sourde, continuelle, une sensation de pesanteur dans la station debout, voire même assise, et qui ne disparaît complètement qu'au lit. Sur ce fond continu, plus ou moins accentué suivant la fatigue, les voyages, les excès génitaux, il faut faire préciser les irradiations lombaires et périnéales. Ces caractères plaident en faveur d'une atteinte du col.

Par contre, les douleurs latéralisées, uni ou bilatérales, accompagnées de nausées et de ballonnements, à irradiations sacrées, avec des troubles de la défécation et de la miction, orientent vers une atteinte annexielle et ses réactions péritonéales concommittantes. On essaiera de confirmer cette impression en recherchant l'existence de crises de colique, l'exacerbation des douleurs au moment des règles et les troubles menstruels à type de ménométrorragies.

A l'occasion de l'étude des caractères des règles, il faut également rechercher l'*évolution de long cours* de la maladie et faire décrire d'éventuelles crises fébriles, plus ou moins sévères ou prolongées, accompagnées ou non de symptômes péritonéaux qui seraient d'une réelle valeur pour orienter le diagnostic.

On se renseignera également sur l'existence possible de *troubles de la miction* en recherchant si ces dernières sont douloureuses ou augmentées en nombre. Chez la femme, d'ailleurs, en raison de la brièveté de l'urètre qui est largement ouvert sur une zone richement septique, la constatation d'une

urétrite est intéressante, mais a beaucoup moins de valeur que chez l'homme.

Tous ces signes fonctionnels sont donc peu caractéristiques et, de plus, ils peuvent, et c'est fréquent, manquer totalement.

Une fois l'interrogatoire terminé, on pratiquera l'*examen physique* dont on est en droit d'attendre, heureusement, plus de renseignements.

Il faut pratiquer un examen complet, en insistant particulièrement sur les *repaires du gonocoque*.

Par la simple inspection, on pourra remarquer une large pigmentation brunâtre de la face interne des cuisses accompagnée de lichénification qui signera l'existence de pertes abondantes et déjà anciennes. Il faut ensuite inspecter la vulve pour rechercher le caractère des pertes et déceler une éventuelle tuméfaction d'une glande de Bartholin. L'examen de la vulve se poursuit en déplissant les lèvres pour apprécier l'état du méat urinaire et des lacunes glandulaires qui l'avoisinent. Cet examen doit être fait loin d'une miction, de préférence le matin alors que la malade n'a pas uriné depuis la veille. Cela permet de voir parfois un écoulement minime. Il est indispensable d'apprécier par le toucher l'état de l'urètre qui peut être senti comme un cordon dur, irrégulier, moniliforme, le long duquel on sent parfois une petite tuméfaction qui est une skénite chronique; ce toucher se termine par un massage de l'urètre et des glandes de Skène pour essayer de faire sortir une goutte de pus. Qu'il y ait du pus ou non, et même si l'urètre paraît rigoureusement sain, un prélèvement est fait et étalé.

Toujours à la vulve, on examine sur la face interne des petites lèvres l'orifice de la glande de Bartholin. Il est quelquefois marqué par une petite tache rouge, comparable à une piqûre de puce, la *tache de Sanger*, qui indique la présence d'une infection du canal de la glande. Même si l'orifice paraît sain, il faut palper entre deux doigts, l'un vaginal et l'autre externe, la base de la petite lèvre dans laquelle on sent parfois un noyau dur, irrégulier et sensible que l'on exprime pour recueillir une goutte de pus qui sera étalée sur lame. Cette

atteinte de la glande de Bartholin doit être recherchée avec soin, non pas tant à cause de sa fréquence, mais parce qu'elle est absolument pathognomonique d'une infection gonococcique.

Lorsque la vulve et ses repaires ont été soigneusement examinés, on introduit le spéculum qui montre l'état du vagin, qui a peu d'intérêt dans la blennorragie, et surtout l'état de l'*exocol*. Celui-ci peut être parfaitement normal ou présenter divers aspects pathologiques (Durel) (29) :

— *Cervicite érosive pure* où une zone rouge vif, brillante, entoure l'orifice du col;

— *Cervicite ulcéro-bourgeonnante* ou *granuleuse;*

— *Cervicite hypertrophique* qui se combine souvent aux deux formes précédentes et qui donne des aspects en bouchon de champagne ou en museau de tapir;

— *Cervicite kystique* dont il faut crever les kystes pour en examiner le contenu.

Mais il faut, dans tous les cas, compléter l'examen par la recherche de l'état de l'*endocol*. L'endocervicite se traduit uniquement par un écoulement qui bave par l'orifice du col. Pour certains auteurs, toute glaire qui s'échappe du col est pathologique, sauf avant et après les règles et pendant deux ou trois jours au moment de l'ovulation. L'opinion générale est cependant qu'une glaire, claire, uniquement muqueuse, n'est pas pathologique quel que soit le moment du cycle menstruel où on l'observe. Ce qui est anormal, c'est la présence d'une glaire muco-purulente. Si le col ne laisse échapper aucune sécrétion il faut le « traire » entre les deux valves du spéculum et on voit parfois apparaître un écoulement qui serait passé sans cela inaperçu.

Que peut-on conclure de la constatation de ces diverses formes de métrite ? Pas grand chose du point de vue étiologique, car les autres causes : traumatismes, infections à germes banaux, post partum, dérèglements hormonaux, trichomonas, épithélioma au début, peuvent donner les mêmes aspects. La meilleure preuve en est que de nombreuses classifications des métrites chroniques se sont succédées (anatomiques —

évolutives — étiologiques) sans qu'on puisse établir de correspondance entre elles. Tout ce qu'on peut dire, c'est qu'une endocervicite purulente est plus suspecte qu'une simple exocervicite. Mais, cependant, que le col soit sain, simplement érodé, ou franchement purulent, il faut toujours faire un prélèvement endocervical.

Pour terminer l'examen, on pratique un *toucher vaginal* qui appréciera la mobilité de l'utérus, ses limites et son indolence, la dépressibilité ou le comblement des culs-de-sacs et l'existence de tuméfactions annexielles douloureuses ou non.

Là encore, l'examen physique n'apportera qu'un diagnostic anatomique qui ne préjugera que bien peu du diagnostic étiologique. Ce qu'on peut seulement dire, c'est que le gonocoque donne, en général, des atteintes bilatérales des annexes.

Mais, cependant, le streptocoque, les germes de la flore intestinale, le bacille de Koch, pour ne citer que les grandes étiologies, peuvent donner des formes tout à fait semblables et la meilleure preuve de l'origine gonococcique d'une annexite reste encore la découverte du germe dans un de ses repaires.

Arrivé à la fin de ce chapitre, on est donc forcé d'aboutir à la conclusion que l'examen clinique, sauf dans les formes aiguës richement symptomatiques, ne donne que rarement un élément diagnostique de valeur. Dans les formes chroniques, en effet, seules sont pathognomoniques les bartholinites ou les foyers purulents enkystés au niveau des cryptes glandulaires de la vulve. Dans tous les autres cas, on ne peut rien conclure et on doit se contenter d'une impression fragile. Le diagnostic clinique est donc insuffisant et doit être obligatoirement accompagné d'un examen bactériologique de toutes les sécrétions suspectes.

Enfin, il faut insister, pour terminer, sur le fait qu'un examen clinique entièrement négatif n'exclut pas le gonocoque et ne doit pas dispenser de la recherche sur lame que nous allons maintenant envisager.

LA RECHERCHE DU GONOCOQUE SUR LES FROTTIS

Il en est de la blennorragie comme de toutes les maladies infectieuses à germe connu, la seule véritable preuve, celle qui affirme le diagnostic de manière irréfutable, réside dans la mise en évidence du microbe responsable de l'infection. Cette preuve bactériologique prend une valeur plus grande encore, si c'est possible, lorsque la clinique, comme c'est le cas dans la blennorragie féminine chronique, ne permet qu'un diagnostic anatomique qui ne correspond que très mal, nous l'avons vu, à l'étiologie.

Dans la blennorragie féminine, on ne peut donc pas se passer de la recherche du gonocoque. Mais celle-ci doit être faite avec soin et les résultats obtenus dépendent entièrement de *deux éléments fondamentaux* : la *qualité parfaite de la technique* employée et la *compétence de l'observateur*.

Une *technique parfaite* de bout en bout est la première condition à remplir. Comme toute technique, elle est faite d'une succession de détails qui doivent être, tous, minutieusement réglés, si l'on prétend obtenir de bons résultats.

Il faut, d'abord, pratiquer le prélèvement deux ou trois heures après la miction précédente et, de préférence, le matin, avant la première émission d'urine. Sans cette précaution, on examine un urètre qui vient d'être nettoyé par le passage de l'urine avec laquelle les germes ont été entraînés. Pour une raison identique, il faut que la femme n'ait pas fait de toilette génitale depuis au moins douze heures.

Ces précautions initiales remplies, il faut ensuite prélever en des endroits convenables. Deux sont classiques : l'*urètre* et le *col*, encore, d'ailleurs, faut-il observer certaines règles. Au niveau de l'*urètre*, dont on commence par nettoyer le méat avec un tampon de coton, il est facile de prendre une goutte de pus qui sourd spontanément. Mais cette éventualité est rare et, dans tous les autres cas, il faut faire un massage à l'aide d'un doigt vaginal qui vient écraser, par un mouvement d'arrière en avant, le canal contre le pubis. Enfin, le prélèvement

doit se faire, non pas au méat, mais à l'intérieur de l'urètre, en faisant pénétrer l'öse, ou mieux l'écouvillon, sur une longueur de un centimètre environ et en râclant les parois du canal.

Au niveau du *col*, les principes sont les mêmes et il est inutile de prélever sur l'exocol ou de prendre la glaire qui s'échappe de l'orifice, car la lame ne montrerait, dans ce cas, que la flore vaginale qui est sans intérêt. Il faut donc « moucher le col » pour enlever la glaire et prélever à l'intérieur du canal cervical, puisque c'est à ce niveau que se trouve la zone glandulaire où végète le gonocoque.

Ces deux prélèvements sont absolument indispensables, mais ils ne sont cependant pas suffisants. Il faut encore examiner avec soin tous *les repaires* et prélever autant de fois qu'il sera nécessaire.

Les *glandes de Skène* sont examinées avec l'urètre et leur expression est pratiquée par le massage de ce dernier. C'est, d'ailleurs, encore une raison de plus de toujours faire ce massage.

La *glande de Bartholin* doit, également, toujours être vérifiée et, non seulement à la vue, mais au toucher, pour déceler une tuméfaction minime dont l'expression douce s'efforcera de provoquer l'émission d'une goutte de pus qui sera alors étalée sur lame.

Enfin, il faut passer en revue, à l'œil et au doigt, toutes les *cryptes glandulaires* où peut se cacher le gonocoque. Rappelons ici la localisation de ces cryptes : glandes sous-méatiques, glandes labio-vaginales, glandes naviculaires.

Le prélèvement au niveau de la marge de l'anus et du canal anal peut être également fait, mais il n'est pas, en France, de pratique habituelle.

Reste enfin le prélèvement vaginal. Chez la femme adulte, il est très généralement considéré comme inutile, car le gonocoque ne peut se développer dans le vagin qui fourmille, par contre, de germes rendant l'examen difficile. Cette flore vaginale a été étudiée par LAUGHTON (60) qui donne les pourcentages de fréquence suivants : bacille de Doderlein 53,8 %, diphtéri-

morphes 86,3 %, staphylocoques 74,3 %, cocci gram-positifs, pouvant être pris pour des gonocoques si on fait un simple bleu, 25,6 %. Nicol, par contre (80), examine et cultive le prélèvement vaginal qui lui donne quelques résultats positifs.

Tous ces prélèvements sont faits habituellement avec une anse métallique ou une curette mousse. Il est bien préférable de les pratiquer avec un écouvillon, car ce dernier a le double avantage de mieux absorber les sécrétions des parois des canaux dans lesquels on l'introduit et de faciliter l'étalement sur lame.

Il est, en effet, indispensable de faire des étalements minces, qui sèchent rapidement et seront facilement lisibles après coloration. Il est recommandé de faire deux frottis pour chaque prélèvement, l'un étant coloré au bleu et l'autre par la méthode de Gram. L'utilité du bleu nous paraît contestable, car il doit toujours être contrôlé par l'examen de la lame traitée par la double coloration et, si celle-ci est bien faite, elle donnera d'aussi bons renseignements sur la morphologie du germe et sur celle des éléments cellulaires. En tout cas, à ne faire qu'un étalement, il faut le colorer au gram, car on ne peut absolument rien conclure d'un bleu seul.

Nous n'entrerons pas dans le détail de la description de la coloration de Gram. Nous rappelerons, simplement, sa difficulté réelle malgré son apparente simplicité. Pour cette raison, on a décrit des variantes qui permettraient une différenciation plus aisée entre les gram-négatifs et les gram-positifs: variante de Hucker décrite dans le livre de Durel (29); variante de Loureiro où l'alcool est remplacé par l'alcool iodé. En fait, chaque observateur met au point, par la pratique, sa technique personnelle et celle donnée par tous les livres classiques nous a paru mériter d'être conservée.

Toutes les autres colorations, en dehors du bleu et du gram, sont sans intérêt dans la pratique habituelle.

Une fois les questions de technique réglées, c'est alors qu'intervient l'interprétation des lames qui amène de nouvelles difficultés.

Normalement un urètre sain ne doit montrer que des cellules épithéliales avec, de loin en loin, un polynucléaire. Un prélè-

vement cervical montre, perdus dans le mucus, des cellules épithéliales et quelques polynucléaires.

Dans l'un comme dans l'autre cas, on ne doit pas trouver de germe.

Dès que le col ou l'urètre sont malades, les polynucléaires se multiplient et les germes foisonnent. C'est parmi ces flores riches et variées, dans la description desquelles nous ne pouvons pas entrer, qu'il est le plus difficile de trouver le gonocoque. Nous rappellerons ici les critères que Barbellion (4-5) exige pour affirmer qu'il s'agit bien de ce germe. Ils sont au nombre de quatre :

— Diplocoque de morphologie stable, avec, seulement de minimes variations de taille;
— Ne gardant pas le gram;
— Toujours intraleucocytaire;
— Seul de son espèce dans un même polynucléaire.

Ces conditions sont en général acceptées par tous. Il y a cependant quelques divergences qui portent essentiellement sur la valeur qu'on peut accorder aux diplocoques gram-négatifs extracellulaires. Les variations du gram et l'existence de gonocoques gram-positifs ne sont plus, en effet, soutenus par personne; les seules variations, d'ailleurs exceptionnelles, que l'on peut observer dans ce sens, se rencontrent au cours d'un traitement par la pénicilline ou les sulfamides; elles disparaissent, dès l'arrêt du traitement. L'opinion classique, en France, est celle de Barbellion et elle a été récemment réaffirmée dans un vœu de la Société Française de Gynécologie. Elle est également souvent adoptée à l'étranger (King et Gallagher) (53). Par contre, certains auteurs défendent le droit d'affirmer la présence du gonocoque sur la constatation de diplocoques non intracellulaires. Carle et Lebeuf (15), soutiennent cette opinion et pensent également qu'on peut rencontrer dans un polynucléaire des gonocoques voisinant avec d'autres germes. Morel et Bernier (74) vont jusqu'à prétendre, qu'à vouloir exiger la présence dans les polynucléaires on renonce à faire le diagnostic de 80 % des blennorragies féminines les plus authentiques. Barbellion (6), par contre, affirme que si on trouve

des gonocoques en dehors des cellules, un examen approfondi permettra toujours d'en trouver d'intraleucocytaires et que cette condition doit être maintenue.

On touche là une des principales difficultés des examens sur lame. Il est bien certain que ces conditions exigées peuvent paraître sévères mais, cependant, il suffit d'avoir examiné quelques lames de blennorragies féminines pour savoir combien il est difficile de décider sur la seule morphologie de germes gram-négatifs, cocciformes, groupés par deux, extracellulaires, s'il s'agit ou non de gonocoques. Un exemple illustrera cette difficulté. Nous l'emprunterons à Sylvestre (96) qui rapporte le travail de Van Slyke. Ce dernier, à New-York, a envoyé à trois laboratoires différents, spécialisés dans la recherche de la blennorragie, les frottis de 140 femmes. Les réponses furent les suivantes : 40 cas positifs pour l'un, 47 pour l'autre et 88 pour le dernier. Ces différences importantes ébranlent fâcheusement la valeur des résultats obtenus par la lecture des lames et expliquent que la plupart des auteurs qui se sont occupés de la blennorragie, recommandent que ce soit toujours le même observateur qui fasse les examens. L'idéal est de faire faire par un seul individu l'examen clinique, les prélèvements et la lecture des lames.

Cette incertitude de l'examen des frottis ne se retrouve pas à la culture et ce n'est pas un des moindres avantages de cette méthode.

Seuls, les résultats positifs ont une valeur absolue et on ne peut pas conclure, d'un frottis sans gonocoque, à l'absence de ce germe chez la malade. On s'est donc préoccupé de réduire ce pourcentage de résultats négatifs et, dans ce but, on a préconisé les *méthodes de réactivation.*

Berthoud (10), à l'occasion de la découverte de l'action du gynergène dans ce domaine, fit en 1939 une revue générale des diverses méthodes employées. Nous ne rappellerons ici que les principales. Nous commencerons par l'action des *règles* qui constituent, de l'avis unanime, la plus efficace des réactivations. On discute simplement du moment le plus favorable au prélèvement : est-ce avant, pendant ou après les menstruations ? C'est l'examen post-menstruel qui est, d'ordinaire, con-

sidéré comme donnant les meilleurs résultats. Koch (55) propose une explication de ce fait d'observation courante. Recherchant, en fonction du cycle menstruel, les variations du pH du mucus cervical, il constate que celui-ci se montre le plus favorable à la viabilité du gonocoque avant et surtout après les règles.

Les *réactivations artificielles* peuvent être *locales* ou *générales*.

Parmi les premières, on a préconisé les *actions mécaniques* (dilatation, curettage, etc...) qui ont été abandonnées en raison de leurs dangers de dissémination de l'infection. On a utilisé également les *moyens physiques* (chaleur, diathermie, rayons X ondes courtes). Mais ils sont peu pratiques et souvent dangereux. Ce sont les réactivations par des *produits chimiques* qui sont les plus employées. Nombreux sont les produits qui ont été essayés (sublimé, formaline, eau oxygénée, lugol, etc...). Mais, en pratique, un seul est utilisé : *le nitrate d'argent*, dont la valeur a été soulignée par Gougerot qui en a fait généraliser l'emploi. Les différences de technique de l'emploi du nitrate sont minimes et on peut décrire, comme méthode générale, celle de Durel (30, : écouvillonage de l'urètre avec un tampon monté trempé dans une solution fraîche de nitrate d'argent à 2 ‰; même technique pour le col avec une solution à 10 %. Le prélèvement de contrôle est fait 48 heures ou 24 heures après, suivant les auteurs.

L'emploi de *méthodes générales* a été également préconisé. On a essayé de provoquer la réapparition du gonocoque enkysté dans les foyers génitaux par des *chocs spécifiques*. Le vaccin gonococcique donnerait, outre une réaction focale, une réaction générale particulière, la double réaction fébrile, que Bruck et les auteurs allemands considèrent comme spécifique. Cette méthode, dont la valeur est contestée, ne serait pas exempte de danger. Les *chocs protidiques non spécifiques* n'ont pas donné de bons résultats. Enfin, Ramel et Berthoud ont préconisé, en 1939, l'usage du *tartrate d'ergotamine* que l'on injecte par voie intramusculaire ou sous-cutanée à la dose de un demi-milligramme ou un milligramme. Le mode d'action qu'ils invoquent est d'ordre mécanique et sécretoire. L'ergotamine agit, en effet, directement sur la contraction du muscle

utérin qui exprime les glandes du col dont l'activité est augmentée par la vaso-dilatation provoquée par l'inhibition du sympathique. Cette méthode serait très efficace au niveau du col et agirait également convenablement sur le rectum.

Les prélèvements de contrôle sont faits 24 heures après l'injection, mais CHAUVET, qui a repris cette méthode, conseille dans sa thèse (17) de faire des examens 3 heures, 9 heures et 24 heures après. DEMILLIE (27) a, par ce procédé, trouvé des gonocoques chez 20 femmes sur 102 qui avaient été déclarées guéries. L'injection de tartrate d'ergoratine a quelques inconvénients. Elle peut provoquer des vomissements et des douleurs abdominales et elle est formellement contr'indiquée en cas de grossesse. C'est, sans doute, pour ces diverses raisons qu'elle ne s'est guère répandue.

De cette rapide revue des nombreuses méthodes de réactivation, il nous semble donc possible de conclure qu'une seule mérite d'être retenue : la réactivation par le nitrate d'argent. Quelle en est la valeur ? Il est bien difficile de le savoir. Si certains, comme GOUGEROT, BERTHOUD, DUREL, pensent qu'elle donne de bons résultats, il est des auteurs qui estiment qu'elle est inefficace : CHAUVET (17), PATIALA (82). On doit cependant la conserver, ne serait-ce qu'en raison de sa facilité et de son inocuité.

Mais, plus encore que les réactivations, c'est la *répétition des examens* qui permettra d'accorder une certaine valeur à des résultats négatifs. Il est indispensable, en effet, de faire chez une même femme des prélèvements successifs pendant un période suffisamment longue.

En pratique, on accepte comme une preuve suffisante trois examens négatifs successifs après réactivation, faits toutes les 48 heures, et un examen négatif après la première menstruation suivante.

Si la femme a été atteinte de blennoragie, le diagnostic de guérison sera encore plus difficile à établir et la surveillance prolongée jusqu'à trois examens après les règles bien que la majorité des récidives se produisent au cours des trois premières semaines.

Peut-on mesurer la valeur de ce diagnostic de la blennorragie

par l'examen des frottis, ainsi pratiqué, c'est-à-dire comprenant : des prélèvements faits dans de bonnes conditions au niveau de tous les repaires possibles, des examens attentifs des lames par un observateur averti des difficultés particulières que pose la reconnaissance du gonocoque et, enfin, une surveillance suffisamment prolongée ?

Il est bien difficile de l'apprécier exactement et on ne peut guère tirer de renseignements des pourcentages de positivité indiqués par les différents auteurs. Ceux-ci varient, en effet, dans des proportions considérables. Pour les uns, les résultats positifs sont exceptionnels et Audry, par exemple, dans une formule, à dessein exagérée pour frapper les étudiants, avait l'habitude de répéter qu'on ne trouvait jamais de gonocoque sur les prélèvements féminins.

A l'opposé de cette opinion, Béclère, par exemple, chez des femmes prises dans une consultation de gynécologie générale, trouve des gonocoques dans 26 % des infections génitales chroniques. Notre position se rapprochera beaucoup plus de celle du premier auteur que de celle du second et nous pensons que chez les femmes non prostituées la proportion de lames positives doit s'établir autour de 5 %. Mais nous pensons également que l'on ne peut tirer de ces résultats aucune conclusion sur la fréquence réelle de la blennorragie. Si on reprend, en effet, l'exemple de Van Slyke cité plus haut, les 140 cas examinés ont tous donné des gonocoques en culture. C'est donc une proportion de 38 à 71 % de cas positifs qui échappent à la lecture des lames. Nous conclurons donc, quant à nous, à la faiblesse de la méthode.

Et, cependant, faute de mieux l'ensemble des auteurs français, tout en connaissant les insuffisances des résultats obtenus par l'examen des lames, s'en est contenté jusqu'à présent. On préfère, en général, associer à cet élément de diagnostic les recherches sérologiques plutôt que de pratiquer les cultures qui ont depuis plus de vingt ans la réputation d'être très difficiles et de ne donner que des résultats infidèles et inférieurs à la lecture des lames.

LES METHODES INDIRECTES DE DIAGNOSTIC

Sous ce titre, nous envisagerons la *gono-réaction* ou *séro-réaction blennorragique* et les *réactions cutanées.*

La *gono-réaction,* qui fut pratiquée pour la première fois en 1906 par Muller et Oppenheim, s'est depuis largement développée et jouit dans notre pays d'une vogue assez générale. C'est une méthode de déviation du complément dans la presque totalité des cas. Certains auteurs ont cependant essayé de codifier les techniques de réaction de floculation et Meinicke a décrit pour la blennorragie une réaction comparable à celle qu'il a décrite pour la syphilis. Vernes a étudié la floculation d'un complexe sérum-gonacrine. Mais Davouze, dans sa thèse (23), conclut au peu de valeur de cette réaction.

En fait, seules sont employées les méthodes de déviation du complément.

Nous négligerons complètement le côté technique de ces réactions (réaction au sérum chauffé ou non chauffé, choix des antigènes, etc.) en nous bornant simplement à rappeler qu'il s'agit d'une sérologie difficile où les causes d'erreur sont nombreuses.

Par contre, plus intéressants pour nous sont les résultats obtenus par les différents auteurs :

Benech et Dombray (1928), sur 100 prostituées prises au hasard, mirent en évidence le gonocoque 52 fois et la gono-réaction fut positive 67 fois, mais les deux recherches ne furent concordantes que dans 63 % des cas. Ils trouvèrent, en effet, dans 26 cas une gono-réaction positive sans gonocoque, et dans 11 cas une gono-réaction négative malgré la présence du gonocoque.

Zeude (1931) trouve la gono-réaction positive dans 90 % des métrites.

Girard (1931) enregistre 76 % de réactions positives.

Mascau (1933) sur 500 femmes, n'a que 58,6 % de positivité.

Barringer (1933), dans 110 cas de blennorragie féminine bactériologiquement reconnue, trouve 95 % de gono-réactions positives.

Rème (1934), dans sa thèse (88), trouve chez 55 prostituées, 42 réactions positives, ce qui fait un pourcentage de 80 %. Dans les bartholinites, il ne trouve que 56 % de gono-réactions positives.

Sivan (1936) s'est appliqué à trouver le gonocoque chez des femmes à gono-réaction positive et, après de patientes recherches, il l'a presque chaque fois découvert.

Moquot et Palmer (1939), sur 295 métro-annexites aiguës, ont 122 gono-réactions positives, alors que le gonocoque n'est trouvé que 17 fois.

Beclere (1947) (8), qui est un partisan convaincu de cette recherche sérologique, pour 723 femmes atteintes d'infection génitale chronique, trouve chez 26 % d'entre elles des gonocoques et dans 36 % des cas une gono-réaction positive. Il va jusqu'à souhaiter l'adoption d'une gono-réaction prénuptiale obligatoire.

Durel (29), par contre, conclut à la valeur assez faible de la gono-réaction dans les blennorragies basses. Ce dernier, par ailleurs, formule une réserve que nous approuvons entièrement et que nous citons directement : « On ne peut pas ne pas être surpris, lorsqu'on lit les travaux portant sur la gono-réaction, de la pétition de principe qui semble avoir présidé à quelques interprétations. De nombreux auteurs disent que la gono-réaction fut positive dans 70, 80, voire 100 % des cas de métrites, salpingites ou arthrites et qu'elle a ainsi décelé une blennorragie qui, sans elle, aurait été ignorée; quand l'affection permettait les recherches bactériologiques et que celles-ci ne montraient pas le gonocoque, ils concluent à la supériorité de la gono-réaction. Ceci est bien possible, mais il est aussi possible que la gono-réaction ait été trop sensible, faussement accusatrice. C'est une faute de raisonnement de juger sur elle seule de l'infection blennorragique dans des cas où, à part elle, la preuve de la blennorragie ne peut être trouvée. »

Si l'on juge avec cette objectivité, qui nous paraît indispensable, la valeur de la gono-réaction, on peut lui faire un certain nombre de critiques.

Du point de vue de la spécificité, des réserves sont à faire, car on trouve des réactions, heureusement assez rares, qui sont

positives chez des sujets indemnes de gonococcie. L'influence de la syphilis sur la gono-réaction, qui a été autrefois un sujet de divergence des opinions, semble aujourd'hui éliminée.

Du point de vue de la sensibilité, les reproches que l'on peut faire à la gono-réaction sont plus sérieux. Nous avons vu, en effet, dans la partie bactériologique de ce travail, que le gonocoque était un mauvais provocateur d'anticorps. Pour cette raison, il existe, assez fréquemment, dans plus de 10 % des cas, une réaction sérologique négative dans des blennorragies certaines. Il peut s'agir simplement de la lenteur normale de l'apparition des anticorps (de deux à cinq semaines), mais bien souvent ceux-ci n'apparaîtront jamais.

Dans la pratique, il existe deux types de discordance entre les résultats bactériologiques des lames et ceux de la gono-réaction.

Dans une première catégorie de cas, on peut trouver des gonocoques et une séro-réaction négative. Cette éventualité, qui peut se voir dans toutes les formes de la gonococcie, est d'ailleurs particulièrement fréquente dans les blennorragies basses qui sont les seules contagieuses. On l'observe souvent aussi dans la blennorragie des femmes enceintes.

Il s'agit là d'une grave lacune de la méthode sérologique. Mais, heureusement, dans ces cas, la valeur absolue des frottis dicte au médecin sa ligne de conduite.

Par contre, dans une deuxième série de cas, l'opposition entre des frottis sans gonocoque et des gono-réactions positives pose des problèmes beaucoup plus embarrassants.

La première chose à faire dans une telle éventualité est de recommencer avec un soin accru la recherche du gonocoque que l'on trouvera parfois. Dans de tels cas, la gono-réaction rend au clinicien un réel service.

Mais si la recherche bactériologique reste sans résultat, le doute persistera.

Si le tableau clinique coïncide avec des renseignements épidémiologiques en faveur de la blennorragie, la gono-réaction positive sera une preuve de plus et permettra d'affirmer la gonococcie malgré la négativité des frottis.

Mais si cet ensemble de circonstances fait défaut, on ne peut

pas tenir compte de la gono-réaction. Il peut, en effet, s'agir d'anticorps persistants dans le sang, alors que la maladie est éteinte depuis plusieurs mois ou même un an, ce qui rend la valeur de la gono-réaction tout à fait limitée dans le diagnostic de la guérison. De telles discordances peuvent enfin être dues à une erreur de la méthode sérologique.

La conclusion que nous tirons de cette rapide revue est donc que la gono-réaction n'apporte qu'une aide très minime au clinicien dans le diagnostic de la blennorragie. Nous sommes ainsi en opposition avec beaucoup d'opinions françaises, mais nous nous rapprochons, par contre, de la plupart de celles que nous avons trouvées dans la littérature anglo-saxonne ou scandinave.

Parmi les méthodes indirectes de diagnostic, il reste encore à envisager celles qui font appel aux réponses allergiques du malade, que l'on étudie par *cuti* ou *intradermo-réactions*. Nous le ferons très rapidement, car les résultats qui ont été obtenus par de telles méthodes sont jusqu'à maintenant minimes. Cette question, depuis longtemps à l'ordre du jour, a été étudiée par Bayonne dans sa thèse (Toulouse, 1920) et on pourra en trouver une revue générale récente dans l'article de Corbus (21).

L'antigène introduit est soit une émulsion microbienne (vaccin du commerce), soit un filtrat : bouillon de Corbus-Ferry. Plus récemment, on a employé des antigènes purifiés sous la forme de polysaccharides (Muttermilch et Grimberg, 1935). Les émulsions microbiennes ont été utilisées en France par Demonchy avec son vaccin et par Gate, Michel et Namei avec le vaccin de l'Institut Pasteur. Les tests ont été surtout faits chez des hommes et auraient donné à leurs auteurs des résultats satisfaisants. Il faut cependant savoir que l'injection cutanée des corps microbiens provoque une réaction antitoxique non spécifique qui gène la lecture de la réponse allergique. Ceci explique la fréquence des cas douteux ainsi que celle des réactions positives chez des sujets indemnes. Cet inconvénient est évité avec les antigènes purifiés et Barbellion et Feld (7) auraient obtenu de bons résultats avec les polysaccharides de Muttermilch et Grimberg. Durel, qui a essayé plusieurs produits, n'a jamais obtenu une concordance satisfaisante entre les réactions cutanées et les autres éléments du diagnostic.

Cette question est donc loin d'être au point et demandera encore bien des études avant d'entrer dans la pratique.

RENSEIGNEMENTS EPIDEMIOLOGIQUES

Si nous venons de voir, dans ce qui précède, le peu d'intérêt des méthodes indirectes de diagnostic, il reste encore un précieux moyen pour assurer celui-ci, c'est la recherche des *renseignements épidémiologiques*.

La blennorragie, comme toute maladie vénérienne, a été transmise au malade que l'on examine par un partenaire et, en cas de doute, l'état de ce dernier fournira une présomption d'une très grande valeur.

Ceci est plus vrai encore pour la femme que pour l'homme. Les organes génitaux féminins sont en effet un réceptacle idéal pour le gonocoque et Janet disait : « Il faut cent femmes pour contaminer un homme, alors qu'il suffit d'un homme pour contaminer une femme. »

Tous les auteurs, d'ailleurs, sont d'accord sur ce point, ce qui est le meilleur argument en faveur de sa véracité.

Il ne faut pas se contenter de l'interrogatoire de la malade qui affirme que son partenaire est indemne. Par contre, les plaintes en contamination ont une valeur plus importante, mais cependant pas absolue. C'est pourquoi le clinicien doit, dans tous les cas, faire tous les efforts possibles pour arriver à examiner le ou les partenaires d'une femme suspecte de blennorragie. La constatation chez l'un d'eux de la présence du gonocoque signifiera, de manière à peu près absolue, que la femme est malade. Audry avait coutume de dire, par exemple : « La meilleure preuve de la blennorragie de la femme est celle du mari ou de l'amant. »

Cette valeur de l'épidémiologie a d'ailleurs reçu la consécration officielle de la part de nombreux pays qui en ont fait la base de la lutte antivénérienne, ce qui est le cas de la France.

Nous avons, maintenant, passé en revue tous les éléments du diagnostic de la blennorragie féminine et l'impression qui se dégage est la difficulté que l'on éprouve dans bien des cas à affirmer ce diagnostic.

Il n'y a, en effet, qu'une preuve formelle, c'est la présence du gonocoque. Mais celle-ci n'est que très rarement apportée.

Le deuxième argument, de beaucoup plus de valeur pratique que le précédent parce que plus fréquent, est la mise en évidence de la gonococcie du partenaire. Cependant, cet élément fait souvent défaut pour une raison ou pour une autre et, de plus, théoriquement du moins, n'a pas une valeur aussi absolue que la constatation du gonocoque.

Loin derrière ces deux éléments, qui dominent jusqu'à présent le diagnostic de la blennorragie féminine, on trouve l'examen clinique et les recherches sérologiques.

Dans bien des cas, par conséquent, si la lame ou l'épidémiologie sont défaillantes, le diagnostic restera hésitant et seule l'évolution permettra de se faire une opinion de plus en plus valable au fur et à mesure que le temps s'écoulera.

Avant d'envisager, maintenant, le bouleversement qu'ont apporté à cette situation les méthodes nouvelles de culture, nous allons étudier rapidement les aspects particuliers soulevés par le *diagnostic chez les prostituées.*

Dès le début, il faut souligner l'opposition qui existe entre l'importance sociale prépondérante de ce diagnostic de blennorragie, chez les femmes qui se livrent à la prostitution, et la difficulté encore accrue de ce dernier.

Les prostituées, quel que soit leur mode d'activité, constituent, on le sait, le facteur prédominant de la dissémination de la maladie. Pour cette raison le dépistage de la blennorragie chez ces femmes est particulièrement important. Or, chez elles, le plus pratique des éléments de diagnostic, l'épidémiologie, fait en grande partie défaut. En effet, il est impossible d'examiner les partenaires et le contrôle ne peut se faire qu'en sens inverse par les plaintes en contamination. Elles ont, certes, de la valeur et sont une aide considérable, mais, bien souvent, elles sont entachées d'erreurs, soit qu'un homme ait voulu dis-

simuler au médecin une autre partenaire en détournant les soupçons sur une prostituée, soit qu'il se soit trompé de bonne foi, soit encore que la plainte ait été déposée pour nuire à la femme.

Le médecin se voit donc réduit à la recherche du gonocoque et les difficultés habituelles, déjà grandes, de sa découverte, vont se heurter alors à la mauvaise volonté de la patiente qui sait bien qu'un examen positif va signifier pour elle l'hospitalisation.

Il n'est pas besoin de dire que l'interrogatoire ne révèlera jamais rien. Quant aux prélèvements, qui, nous l'avons vu, doivent être entourés de précautions strictes pour avoir une signification, ils sont considérablement diminués de valeur par la préparation à laquelle se soumettent toutes les femmes avant l'examen. Préparation locale, tout d'abord, connue depuis toujours, faite de recettes que les femmes se transmettent soigneusement et que le médecin ne connaît jamais toutes. Préparation générale, enfin, depuis l'apparition des sulfamides que les femmes ont pris l'habitude d'absorber avant les examens.

Le diagnostic, chez les prostituées, est donc d'une extrême difficulté, principalement lors des visites obligatoires de dépistage auxquelles les femmes se préparent à leur gré. Ces difficultés disparaissent, en grande partie, pour les femmes prostituées qui sont hospitalisées et on se trouve alors ramené à des conditions voisines de la normale, mais on ne peut pas prétendre enfermer tout le monde.

CHAPITRE II

Le Diagnostic par la Culture du Gonocoque

Nous avons vu, dans le chapitre précédent, que la découverte du gonocoque sur les lames était la seule preuve irréfutable, mais que sa valeur pratique était très faible en raison de la fréquence des résultats négatifs.

Si la culture, méthode directe, procédant par conséquent du même principe, apporte un pourcentage de cas nettement plus élevé, sa justification se trouvera assurée. C'est ce que nous allons essayer de montrer dans ce chapitre qui, malgré son importance, sera bref, puisque la première place sera donnée aux chiffres, qui se passent de commentaires.

Nous étudierons tout d'abord les *techniques de prélèvement*, puis les *imperfections* que l'on peut reprocher à la méthode des cultures, pour enfin terminer par les *résultats* qu'elle permet d'obtenir dans le diagnostic de la blennorragie de la femme.

TECHNIQUES DE PRELEVEMENT

Nous l'avons vu, les cultures sont, comme les frottis, une *méthode directe* et par conséquent tout ce qui a été dit plus haut sur les conditions de prélèvement pour examen sur lame demeure intégralement pour les cultures. Mêmes précautions générales, mêmes lieux de prélèvement, même examen minutieux de tous les repaires et ensemencement de toutes les sécrétions suspectes.

Ce serait une dangereuse erreur de croire que la culture, en raison de son efficacité, dispense de toutes les règles d'examen dont l'expérience, accumulée par les cliniciens, a démontré la valeur.

Mais, il faut observer une règle supplémentaire, celle des précautions d'asepsie de tout prélèvement bactériologique. Non seulement, il faut prélever avec un matériel stérile, ce qui est une évidence, mais il faut, plus encore que sur les lames, éliminer avec soin les germes d'infection secondaire. Dans tous les cas, il faut nettoyer avec du coton stérile le méat urinaire ou l'orifice du col et ne pas prélever les sécrétions externes, mais aller chercher le matériel à ensemencer à l'intérieur des canaux. Au niveau des repaires glandulaires, il faut nettoyer soigneusement les orifices canaliculaires et n'ensemencer que la sécrétion que l'on aura fait sourdre par expression.

Le matériel de prélèvement peut être une anse métallique préalablement flambée au rouge, mais il est beaucoup plus pratique et préférable d'employer de petits écouvillons stériles préparés à l'avance.

En attendant que l'on dispose de milieu de transport satisfaisant, il faut faire l'ensemencement immédiat sur une boîte de Pétri préalablement réchauffée.

Il est commode d'être deux pour faire ces prélèvements. L'un des deux nettoie la région, expose l'orifice et pratique les manœuvres d'expression si nécessaire. Le second fait le prélèvement, ensemence et porte à l'étuve immédiatement.

IMPERFECTIONS DE LA METHODE

Nous distinguerons les *erreurs* et les *inconvénients*.

Les *erreurs* ont été vues dans la première partie bactériologique et nous ne ferons que les rappeler brièvement.

Il peut s'agir d'*erreurs par excès*. Nous rangeons dans ce groupe les cas de germes isolés de colonies oxydase-positives qui ne sont pas des gonocoques.

Il est facile d'éliminer par le gram de grands bacilles gram-

positifs, des diphtérimorphes et des bacilles gram-négatifs. La cause d'erreur qui persiste après le gram tient à la présence d'autres *Neisseria*. Elle est, nous l'avons vu, négligeable lorsqu'il s'agit de prélèvements uro-génitaux. Quant à la question des pseudo-gonocoques, nous ne l'avons trouvée nulle part évoquée. La seule mention pouvant s'y rapporter est celle de THOMPSON qui trouve sur 1.100 cultures, six fois des diplobacilles gram-négatifs non identifiés. Cette question qui a tellement compliqué la bactériologie de la blennorragie paraît donc aujourd'hui résolue.

Toutes ces causes d'erreurs par excès ne dépassent pas 1 %.

Il faut également signaler des *erreurs par défaut*.

Il peut s'agir de gonocoques qui ont poussé sur les milieux, mais qui ne sont pas oxydase-positifs. Nous en avons déjà parlé dans la première partie.

Enfin et surtout, il y a des gonocoques qui ne poussent pas. Il est bien difficile de savoir leur nombre puisque la culture se révélant la méthode directe la plus sensible on ne peut pas lui opposer de résultats à la fois meilleurs et indubitables. Le seul aperçu que l'on puisse avoir sur cette défaillance de la méthode réside dans la recherche des cultures négatives correspondant à des lames positives. Il en persiste toujours un petit pourcentage dont nous verrons l'importance plus loin. Pour cette raison nous ne pouvons pas adopter l'opinion de certains auteurs américains qui conseillent de ne plus faire de frottis. Les deux procédés, au contraire, doivent être employés concurremment.

Enfin, la méthode des cultures a, par rapport à l'examen direct, un *inconvénient*, celui de *retarder le résultat* et par conséquent le diagnostic et le traitement.

Ce retard est de 48 heures puisque cette durée d'incubation est celle que l'on trouve préconisée généralement. Cependant, JOHNSTON (50), qui utilise une gélose chocolat, additionnée d'ascite et de tyrothricine, conseille de lire les boîtes au bout de 24 heures. Il a observé qu'après cette incubation les gonocoques sont moins gênés par les germes secondaires qu'après 48 heures de pousse. Mais, de l'avis de l'auteur même, cette observation ne vaut que pour son milieu, puisque des ense-

mencements simultanés sur d'autres plaques ont donné de meilleurs résultats après 48 heures qu'après 24 heures.

Ce retard peut avoir des *inconvénients* au double point de vue de l'intérêt de la malade et de celui des partenaires qu'elle peut éventuellement contaminer.

En réalité, ces objections sont plus théoriques que réelles, puisqu'on fait toujours concurremment des frottis. S'ils sont positifs, toutes les mesures individuelles et sociales sont prises immédiatement et les cultures ne serviront qu'à enrichir les statistiques. S'ils sont négatifs, le retard de 48 heures est sans inconvénient car, dans des cas semblables, avant les cultures, on se serait borné à répéter les examens avant de faire quoi que ce soit.

Dans le cas particulier des prostituées, la méthode s'applique de la même manière et il est évident que les soins locaux et généraux avant les visites entraînent une diminution du pourcentage des résultats positifs.

Signalons, à ce sujet, qu'une absorption de sulfamides peut empêcher la pousse du gonocoque. Uroma (102) : sur 359 examens de femmes présentant des gonocoques et prenant des sulfamides à dose infra-thérapeutique (6-8 grammes de Sulfathiazol par jour pendant deux jours), examens et cultures pratiqués deux heures après la dernière prise, trouve seulement 65 % de résultats positifs par culture, mais il n'en trouve que 31 % par frottis.

Dans ce cas encore, la méthode des cultures est supérieure à celle des lames.

Rappelons qu'on peut, en pratique, déceler facilement les sulfamides dans les urines par une réaction qualitative, celle de Vanhaecke : tremper dans l'urine un morceau de papier de mauvaise qualité (papier journal), acidifié à l'avance ou extemporanément par immersion dans un acide faible. Si l'urine contient des sulfamides, le papier prend une coloration jaune d'or. Cette méthode est suffisamment sensible pour déceler la prise de deux comprimés de sulfamides une heure auparavant.

RESULTATS

Arrivé à ce point de notre travail, après avoir montré les insuffisances de toutes les méthodes habituellement employées dans le diagnostic de la blennorragie de la femme et avoir exposé les quelques imperfections de la méthode des cultures, il ne nous reste plus qu'à démontrer son incontestable supériorité. Les chiffres, seuls, seront suffisants pour obtenir ce résultat et il ne sera guère besoin de les commenter.

Nous présenterons les statistiques recueillies dans la littérature que nous avons lue, dans *deux groupements différents*. Tout d'abord, une *statistique générale* présentée suivant l'ordre chronologique et ensuite une *statistique par les organes* examinés.

Le premier travail consulté par nous sur la culture dans la blennorragie chronique est celui que Konrad fit en Allemagne en 1928 (57). Sur 91 blennorragies chroniques, cet auteur fit le diagnostic par les lames 67 fois (69 %) et par les cultures 71 fois (78 %). Enfin 20 fois, c'est-à-dire dans 21 % des cas, les cultures ne lui montrèrent pas le gonocoque trouvé sur les lames. Mais il ne faut pas oublier que ces résultats furent obtenus il y a plus de vingt ans, alors que la réaction d'oxydase n'était pas employée.

Mac Leod (69) publie les résultats de ses constatations pendant les années 1931-1934. Il a examiné durant cette période plus de 2.000 femmes (sur lesquelles il ne donne pas de renseignement) et les pourcentages de positivité varient suivant les années respectivement entre 5 et 10 % pour les lames et entre 10 et 20 % pour les cultures. Il est vrai que cet auteur vient de découvrir la réaction d'oxydase.

Carpenter (16) en 1937, chez 245 femmes pratique 843 examens par frottis et cultures. Il trouve 107 frottis positifs et 205 cultures pour un total de 223 examens positifs par l'une ou l'autre méthode.

Les échecs de la culture, c'est-à-dire les cas où la culture est négative alors que le frotti est positif, s'élèvent à 8,1 % des cas et l'auteur recommande d'associer les deux méthodes.

King et Gallagher (53) rapportent quelques travaux américains.

Lankford, en 1941, sur 1.107 femmes, en trouve 251 (22 %) avec du gonocoque. Il a, pour arriver à ce résultat, obtenu 485 examens positifs dont 437 pour les cultures et 116 pour les lames. Il enregistre 12 échecs de la culture, soit 2,3 %.

Jacoby, en 1941, examine 5.303 prostituées new-yorkaises et trouve 435 lames positives pour 1.030 cultures. Le pourcentage passe ainsi de 8,2 % à 19,4 %. Les échecs de la culture sont au nombre de 112, soit 9,8 %.

Strauss, en 1944, fait le diagnostic de blennorragie, chez 281 femmes, par les lames 72 fois (24,9 %) et par les cultures 263 fois (93,8 %). Les échecs de la culture sont au nombre de 18, soit 6,4 %.

King et Gallagher qui rapportent ces résultats publient les leurs. Bien que le pourcentage de positivité des frottis l'emporte légèrement, ils se déclarent néanmoins partisans des cultures et expliquent leur échec relatif par les difficultés dues à la guerre (mauvais milieux, personnel inexpérimenté et instable).

Sylvestre et Beauregard (96) rapportent en 1946 les résultats obtenus chez 400 prostituées :

40 lames furent positives, soit 10 %.
95 cultures furent positives, soit 24 %.

Debray et Le Minor (24), enfin, examinent en 1948 225 femmes dans une consultation spécialisée de blennorragie. Les lames fournirent 36 résultats positifs (16 %) et les cultures 100 (46 %). Les échecs de la culture sont au nombre de 2, soit 2 %.

La lecture de ces chiffres, qui sont assez difficilement comparables entre eux, car les auteurs ne donnent pas toujours des précisions suffisantes sur les malades qu'ils ont examinées, ni sur la manière dont ils établissent leurs statistiques, permet néanmoins deux constatations majeures.

La première est que, dans toutes ces statistiques, exceptée celle de Konrad établie en 1928, *les cultures l'emportent nettement sur les frottis*. Le rapport des pourcentages de positivité des unes par rapport aux autres ne descend jamais au-dessous de 2 et atteint même 3 dans les cas les plus favorables. Une

telle proportion d'augmentation des résultats positifs, établie par les travaux concordants depuis plus de dix ans de nombreux auteurs de différents pays, suffit, à notre avis, à démontrer pleinement la grande supériorité des cultures, qui viennent ainsi se placer au premier rang des méthodes de diagnostic de la blennorragie de la femme.

En raison de cette supériorité, nous pensons que les cultures, très employées dans les pays anglo-saxons et scandinaves, doivent s'introduire chez nous. Le seul obstacle réside dans la difficulté que présentent la fabrication des milieux et la réalisation des conditions de culture. C'est pourquoi, tant qu'il n'y aura pas de milieu de transport satisfaisant, cette méthode restera hors de portée du médecin à son cabinet. Par contre, les avantages sont tels qu'elle doit entrer dans la pratique courante des laboratoires publics ou privés assurés d'un débit suffisant. Mais son lieu d'application nous paraît être par essence même les *dispensaires antivénériens et les services spéciaux de prostituées*. Elle permettra d'obtenir de tels résultats que son institution devrait être rendue obligatoire dans les chefs-lieux de département et dans les grands centres.

Mais quelle que soit la supériorité de la méthode des cultures, elle ne peut cependant prétendre supprimer les frottis, car il y a toujours un pourcentage de cas où les lames font le diagnostic alors que les cultures ne le font pas. Ce pourcentage, à notre avis, n'est pas négligeable, car il faut le calculer, comme nous l'avons fait, par rapport aux cas positifs et non par rapport au nombre total des femmes examinées. Il varie entre 2 et 10 %, ce qui revient à dire que dans l'hypothèse la plus défavorable, la culture laisse passer une blennorragie sur 10 qui sont diagnostiquées. Probablement en laisse-t-elle passer d'autres, car nous ne les diagnostiquons pas toutes, mais il est impossible de savoir combien.

Essayons maintenant de grouper les *résultats en fonction des organes examinés*, pour nous rendre compte si les proportions habituelles entre les résultats du col et de l'urètre sont ou non modifiées par la culture.

L'opinion classique admet que les résultats des lames prélevées dans le col montrent un pourcentage de positivité plus

élevé que celui des lames urétrales. Ces proportions ne semblent pas modifiées par les cultures.

Mac Léod (69), en effet, trouve par culture 16 % de résultats positifs pour l'urètre et 33 % pour le col.

Rosenblatt (90) dans 140 gonococcies, trouve du gonocoque 87 fois dans le col et 53 fois dans l'urètre.

Debray et Le Minor (24), sur 50 cultures positives, trouvent 45 cols positifs et 39 urètres positifs.

Par contre, Engleson (33), sur 179 femmes examinées, trouve, à l'examen direct comme en culture, un pourcentage plus élevé de cas positifs dans l'urètre que dans le col. Par frottis, il trouve 15 urètres positifs et seulement 10 cols. Par culture, il trouve 73 urètres positifs et seulement 68 cols.

Nous avons tenu à citer ces derniers chiffres, qui s'opposent à l'opinion générale, parce qu'ils se rapprochent de ceux que nous exposerons dans notre travail personnel.

Pour terminer ce paragraphe des résultats, il nous faut essayer de juger de la valeur de la méthode, employée pour le *diagnostic de guérison*. Nous n'avons trouvé que peu de renseignements sur ce sujet et notre expérience personnelle, encore trop restreinte, ne nous a pas permis de nous faire une opinion définitive. Il nous semble cependant qu'une position est facilement défendable, c'est celle qui consiste à conserver avec les cultures les mêmes règles qu'avec les examens directs seuls, tant qu'une ligne de conduite nouvelle ne sera pas dégagée.

Les cultures, en raison de leur sensibilité supérieure, laisseront ainsi passer moins de récidives que les examens directs. Mais elles ne les décèleront pas toutes infailliblement et c'est pour cette raison qu'on doit les répéter dans le but de réduire la marge d'erreur.

CHAPITRE III

Travail personnel

Les méthodes que nous avons employées ne nécessitent pas de description particulière, mais nous soulignerons pourtant quelques points. Nous avons toujours pratiqué un prélèvement dans l'urètre après massage de ce dernier et dans le col après nettoyage de la glaire orificielle. Les cas cliniques que nous avons examinés n'ont pas nécessité le prélèvement d'autres sécrétions.

Nos prélèvements ont été faits avec une öse de platine flambée, mais sur la fin de notre travail nous avons acquis la conviction de la supériorité des prélèvements par écouvillon et nous ne serions pas étonné d'obtenir avec eux par la suite des pourcentages de positivité légèrement supérieurs.

L'ensemencement a été fait en boîte de Pétri de 10 à 12 cm. de diamètre. Une seule boîte de Pétri était utilisée pour l'ensemencement en strie de l'urètre et du col. Un diamètre tracé au crayon dermographique sur le fond de la boîte suffisait, en raison de la transparence du milieu, à séparer la zone d'étalement urétral de celle de l'étalement cervical.

Ces points de détail précisés, nous allons maintenant présenter les résultats que nous avons obtenus.

Nous présenterons d'abord les *résultats d'ensemble* sans faire de distinction sur l'origine des femmes examinées. Ensuite nous scinderons ces résultats en *deux catégories : prostituées* et *non prostituées*. Enfin, nous comparerons les résultats bactériologiques avec les signes cliniques et nous terminerons sur les quelques cultures répétées que nous avons pu pratiquer.

RESULTATS D'ENSEMBLE

Nous avons examiné 50 femmes, chez lesquelles nous avons pratiqué 75 cultures et examens directs concommittants.

Dans le *tableau I* nous donnons les résultats obtenus par la *méthode des frottis*. Les pourcentages sont établis par rapport au nombre de femmes examinées et non par rapport au nombre d'examens. Cette référence nous paraît plus valable que l'autre puisqu'en définitive ce que nous cherchons à apprécier c'est la proportion de cas cliniques décelés par les frottis, qu'il ait fallu en faire un ou plusieurs pour arriver au diagnostic.

TABLEAU I

	URÈTRE	COL	TOTAL	%
+	4	3	5	10
±	3	5	8	16
—	43	42	37	74

Ce tableau montre un pourcentage de positivité de 10 % qui est élevé. Il est dû à la présence dans ces chiffres d'ensemble des résultats obtenus chez les prostituées.

La deuxième constatation que nous tirons de ces chiffres est que les cas d'interprétation douteuse se rencontrent au maximum sur le col. Enfin, on voit que l'examen direct nous a révélé des gonocoques un peu plus souvent dans l'urètre que dans le col, ce qui est contraire aux résultats habituellement publiés.

Le *tableau II* est constitué d'une façon identique et donne les chiffres obtenus par les cultures.

TABLEAU II

	URÈTRE	COL	TOTAL	%
+	16	8	16	32
±	1	0	1	2
—	33	42	33	64

Trois constatations ressortent de l'examen de ce tableau.

La proportion de positivité est passée de 10 à 32 %, c'est-à-dire à *plus que triplé*. Ces résultats s'accordent avec tous ceux que nous avons exposés et ils nous ont définitivement convaincu de la valeur de la méthode.

On peut remarquer ensuite que *nous trouvons dans l'urètre deux fois plus de gonocoques que dans le col*. De plus toutes les femmes ayant du gonocoque dans le col en présentaient également dans l'urètre. Ces résultats sont en contradiction complète avec ceux habituellement publiés. Nous n'avons trouvé à ce fait aucune explication et nous nous bornons à l'enregistrer.

Enfin, nous n'avons eu qu'un cas douteux en culture. Nous en avons rapporté les détails dans l'exposé plus spécialement bactériologique de notre travail personnel.

Dans le *tableau III* nous avons comparé les résultats des lames et des cultures faites à partir des *prélèvements urétraux*.

TABLEAU III

	Lames + Cultures +	Lames ± Cultures +	Lames ± Cultures —	Lames — Cultures +	Lames — Cultures ±	Lames — Cultures —
Nombre	4	2	1	10	1	32
%	8	4	2	20	2	64

Ces chiffres montrent que :

— Tous les prélèvements positifs sur lames ont été positifs en culture;

— Il n'y a eu qu'un cas douteux, celui dont nous avons parlé plus haut;

— Deux sur trois des prélèvements douteux sur lame, ont été positifs en culture;

— Enfin et surtout, *on passe de 4 lames positives à 16 cultures positives, ce qui fait un pourcentage d'augmentation de 4*.

Le *tableau IV* est pour les *prélèvements cervicaux* l'homologue du précédent.

TABLEAU IV

	Lames + Cultures +	Lames ± Cultures +	Lames ± Cultures —	Lames — Cultures +	Lames — Cultures —
Nombre	3	2	3	3	39
%	6	4	6	6	78

Ces chiffres présentent quelques particularités intéressantes. On constate, en effet, que toutes les lames positives correspondent à des cultures positives et qu'il n'y a pas de cas douteux. Mais il y a deux remarques plus importantes à faire.

La première résulte de la comparaison des lames douteuses et des résultats obtenus en culture pour les mêmes prélèvements. Sur cinq cas, trouvés douteux par l'examen des lames, deux se sont révélés positifs en culture et trois négatifs. Ce fait, joint à celui que les cultures semblent avoir été suffisamment sensibles puisqu'elles n'ont pas eu d'échec, nous paraît une preuve de plus de la difficulté de la lecture des lames de prélèvements cervicaux.

Enfin, on peut lire sur ce tableau que les cas positifs sont passés de trois, par les lames, à huit, par les cultures. Le rapport d'augmentation n'atteint donc pas trois et se montre bien inférieur à celui des résultats urétraux. Ici encore ce fait s'oppose à l'opinion généralement admise et nous l'enregistrons sans l'interpréter.

RESULTATS SPECIAUX

Après ces résultats d'ensemble, nous allons maintenant étudier ces chiffres en divisant les femmes examinées en deux grands groupes : les *prostituées* et les *non prostituées*.

Nous avons pu examiner dans le service spécialisé de la Salle Sainte-Madeleine *25 prostituées hospitalisées* pour différents motifs : irrégularité du traitement suivi, vérification après arrestation pour raccolage, suspicion de gonococcie ou plainte en contamination.

Le *tableau V* donne pour ces 25 femmes les résultats obtenus par l'*examen direct*.

TABLEAU V

	URÈTRE	COL	TOTAL	%
+	3	3	4	16
±	2	1	3	12
—	20	21	18	72

Les chiffres obtenus qui montrent un pourcentage de femmes malades de 16 % sont manifestement insuffisants.

Le *tableau VI* nous apporte les résultats des *cultures*, qui paraissent plus satisfaisants à l'esprit.

TABLEAU VI

	URÈTRE	COL	TOTAL	%
+	12	6	12	48
±	0	0	0	0
—	13	19	13	52

On peut voir, sur ce tableau, que tous les frottis positifs ont correspondu à des cultures positives et qu'il n'y a pas de cas douteux. Mais surtout *le nombre de femmes trouvées malades passe de 4 à 12*, ce qui donne un *rapport d'augmentation de 3* et le résultat final de *48 % de prostituées porteuses de gonocoque*. Ce chiffre très élevé semble beaucoup plus conforme à la réalité puisqu'il s'agit de femmes hospitalisées parce que suspectes à un titre ou à un autre. Rappelons ici l'observation particulièrement intéressante d'une femme, jeune, qui se livrait à la prostitution depuis peu et qui fut examinée après arrestation pour raccolage. L'examen clinique fut entièrement négatif et les lames ne montrèrent pas de gonocoque. La culture révéla une seule colonie de gonocoques sur l'ensemencement urétral.

Enfin, nous trouvons deux fois plus d'urètres malades que de cols.

Nous ne présenterons pas dans un tableau les résultats obtenus chez les *femmes non prostituées*, car il nous a paru plus intéressant de scinder ce groupe, forcément disparate, en catégories, suivant les *renseignements épidémiologiques*.

Quatre femmes furent examinées dont le partenaire avait une gonococcie vérifiée dans le service.

Chez ces quatre femmes, les lames révélèrent une fois des gonocoques, restèrent douteuses une fois et négatives deux fois. Par contre, les quatre cultures correspondantes poussèrent largement. Ceci apporte, s'il en était besoin, une confirmation à l'aphorisme d'Audry : « La meilleure preuve de la blennorragie de la femme est celle de son mari ou de son amant. »

Deux femmes furent examinées à la suite d'une plainte en contamination. Les frottis, comme les cultures, restèrent négatifs. On ne peut rien conclure en raison du petit nombre. Nous n'avons pas compris ici le cas d'une femme que nous avons rangée parmi les prostituées, puisqu'elle nous était adressée avec 27 plaintes. Chez cette femme un examen minutieux des lames était resté négatif, alors que la culture du prélèvement urétral fut luxuriante.

Enfin les 19 femmes restantes ne furent pas trouvées porteuses de gonocoque, même après culture.

Il s'agissait de :

— Une vulvite chez une fillette. Cette vulvite, étiquettée gonococcique, qui avait résisté au traitement sulfamino-pénicilliné, disparut en trois jours par la seule application de solution de Millian;

— Cinq femmes enceintes;

— Un post-partum récent;

— Douze femmes métritiques sans étiologie particulière.

COMPARAISON ENTRE LA CLINIQUE ET LA BACTERIOLOGIE

Après ces chiffres, qui nous ont montré la supériorité si nette des cultures sur les examens directs, nous allons présenter un tableau comparatif des signes cliniques, fonctionnels et physiques, et des résultats bactériologiques.

Dans le *tableau VII* nous avons groupé les 16 femmes dont la culture démontra qu'elles hébergeaient du gonocoque.

Dans le *tableau VIII*, présenté de la même manière, nous avons groupé les 34 femmes chez lesquelles on n'a pas trouvé de gonocoque.

Il nous faut, avant de présenter nos tableaux, définir notre notation :

— Pour l'*urètre* :

S.F. + signifie : présence d'un des signes suivants : pollakiurie, douleur, brûlure à la miction.

S.Ph. ± signifie : suintement minime, clair, seulement après massage.

S.Ph. + signifie : écoulement.

— Pour le *col* :

Exo.C. désigne les cols ulcérés ou bourgeonnants ou augmentés de volume.

Endo.C. désigne des cols avec une glaire purulente ou mucopurulente.

TABLEAU VII

N°	Groupes épidémiologiques	URETRE				COL					
		S.F.	S.Ph.	Lames	Culture	Pertes	Douleur	Exo.C.	Endo.C.	Lames	Cultures
42	Partenaire malade	−	−	−	+	+	−	+	+	−	−
46	"	−	−	−	+	+	−	−	+	±	+
64	"	−	±	+	+	−	−	−	−	−	−
85	"	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+
11	Prostituée	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−
15	"	"	−	−	+	"	"	+	+	−	−
39	"	"	−	−	+	"	"	−	règles	−	−
71	"	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+
78	"	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−
79	"	−	−	−	+	−	−	−	−	±	+
87	"	−	−	−	+	−	+	−	−	+	+
93	"	−	−	−	+	−	−	−	règles	−	−
100	"	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+
101	"	−	−	+	+	−	−	−	−	−	+
102	"	−	±	±	+	−	−	+	+	−	+
		−	+	±	+	+	+	+	+	−	−

TABLEAU VIII

N°	Groupes épidémiologiques et étiologiques	URETRE			COL				
		S.F.	S.Ph.	Lames	Pertes	Douleur	Exo.C.	Endo.C.	Lames
45	Prostituée	–	–	]	–	–	–	–	–
50	//	–	–	–	–	–	–	–	–
53	//	/	–	–	//	//	–	–	–
58	//	+	–	–	–	–	–	–	–
60	//	–	–	–	–	–	+	+	–
62	//	–	–	–	–	–	–	–	–
72	//	–	–	–	–	–	+	–	–
86	//	–	–	–	–	–	+	+	–
88	//	–	–	–	–	–	–	–	–
89	//	–	–	–	–	–	–	–	–
94	//	–	–	–	–	–	–	–	–
106	//	–	–	–	–	–	+	+	–
107	//	–	–	–	+	+	+	+	–
3	Vulvite	//	//	//	+	//	//	//	//
8	Plainte en contamination	–	–	–	–	–	+	–	–
44	// //	–	–	–	–	–	+	–	–
103	Post-Partum	–	+	–	+	–	+	–	–
20	Femme enceinte	+	–	–	+	–	–	+	–
37	// //	+	+	–	+	+	+	+	–
48	// //	–	–	–	+	–	+	–	±
52	// //	–	+	–	+	+	+	+	–
55	// //	–	–	–	+	//	//	//	–
17	Leucorrhéique	–	+	–	+	+	+	+	–
29	//	–	+	–	+	–	–	+	–
30	Douleurs	–	–	–	–	+	–	–	–
35	Leucorrhéique	–	–	–	+	–	–	+	–
47	//	–	–	–	+	+	+	–	±
49	//	–	–	–	+	–	–	–	–
65	//	–	–	–	+	–	+	–	–
73	//	–	–	–	+	+	+	+	–
76	//	–	–	–	+	+	+	–	–
84	//	–	–	–	+	–	+	+	–
95	//	–	–	–	+	–	+	+	–
104	//	–	–	±	+	–	+	+	–

La lecture de ces deux tableaux est difficile, car la comparaison des cas, soit pris à l'intérieur d'un même tableau, soit pris dans les deux, ne dégage aucune impression d'ensemble. Elle ne fait que confirmer, à la lumière de la nouvelle méthode, ce qu'on savait déjà, qu'il n'y a aucune comparaison possible entre la clinique et les résultats bactériologiques. Enfin, pour terminer, nous donnerons le résultat de nos cultures faites

deux, trois ou quatre fois chez une même malade. Mais le nombre en est trop restreint pour en tirer une conclusion.

Pour quatre premières cultures négatives, une deuxième culture fut également négative.

Pour une première culture douteuse, une deuxième culture fut négative.

Pour huit femmes trouvées positives par culture, traitées par 700.000 unités de Pénicilline par 24 heures pendant 48 heures et par des lavages locaux associés à des poudrages sulfamidés, nous avons fait des cultures de contrôle 48 heures après arrêt du traitement. Dans six cas nous n'avons pas trouvé de gonocoque et ce résultat s'est maintenu, dans deux cas, après contrôle un mois plus tard (les quatre autres n'ont pas été suivis). Dans deux cas, par contre, il a fallu associer les sulfamides et le propidon pour négativer les cultures de contrôle.

Conclusions

La première partie de notre travail nous a montré que la recherche bactériologique du gonocoque présentait encore d'importantes lacunes. Malgré cela les chercheurs sont parvenus à rendre sa pousse relativement facile par la codification précise des conditions de culture — incubation pendant 48 heures à 35°-36° en atmosphère humide, enrichie en CO_2 — et par la découverte de milieux riches. Parmi ces milieux nous avons utilisé celui décrit par PEIZER et STEFFEN que nous avons modifié par l'emploi du sang humain citraté.

Le progrès essentiel, à notre avis, n'est pourtant pas contenu dans ces améliorations de technique. Il réside davantage dans l'application à l'identification du germe de la réaction d'oxydase, test commode à rechercher, suffisamment spécifique, à condition d'être contrôlé par une coloration de Gram et de s'appliquer aux cultures de prélèvements uro-génitaux. Nous avons utilisé pour cette réaction le chlorhydrate de diméthylparaphénylènediamine en pulvérisation.

La culture du gonocoque, rendue pratique et efficace par l'adoption de ces nouvelles méthodes, a été utilisée avec succès dans le diagnostic de la blennorragie féminine par de nombreux auteurs dont nous avons rapporté les travaux.

Adoptant ces méthodes de culture, nous nous sommes attaché, dans notre travail, à rechercher le gonocoque tout spécialement dans la blennorragie de la femme.

Chez 50 femmes nous avons pratiqué en même temps examen direct sur lame et culture. L'examen direct ne révéla le gonocoque que dans cinq cas, alors que la culture réussit à isoler le germe dans seize cas.

Les résultats positifs se sont donc trouvés triplés.

Sur le nombre il y avait 25 prostituées; chez trois d'entre elles les lames montrèrent du gonocoque alors que douze cultures furent positives.

Dans ce cas les résultats furent ainsi quadruplés.

Nous pensons donc que la culture par ces nouvelles méthodes représente un moyen de mise en évidence du gonocoque trois à quatre fois plus efficace que l'examen direct, dont tous les vénéréologues connaissent la valeur très relative et que, pour ces raisons, elle mérite d'être intégrée dans les moyens courants de dépistage de la gonococcie féminine.

Vu: *Le Président de la Thèse:* NANTA

Vu: *Le Doyen:* LEFEBVRE

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 19 Juillet 1949
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :
DOTTIN

Bibliographie

1. Asch (P.). — Gonocoques dégénérés et transmission de la blennorragie (*Ann. Dermat. et Syphil.*, 1946, **6**, 731).
2. Asch (P.). — Qu'est-ce que le gonocoque ? (*Ann. Mal. Ven.*, 1935, **30**, 721-726).
3. Asch (P.). — Urétrites gonococciques et non gonococciques (*Ann. Mal. Ven.*, 1931, **26**, 241-256).
4. Barbellion (P.). — Gonocoque et pseudo-gonocoque (*Thèse de Paris*, 1926).
5. Barbellion (P.). — *La blennorragie chez l'homme et chez la femme*, Maloine édit., Paris, 1937.
6. Barbellion (P.). — Qu'est-ce que le gonocoque ? (I. *Ann. Mal. Vén.*, 1935, **30**, 241-257; II. *Ann. Mal. Vén.*, 1935, **30**, 337-355; III. *Ann. Mal. Vén.*, 1936, **31**, 161-166).
7. Barbellion (P.), Feld (L.). — L'intradermo-réaction de Muttermilch et Grimberg avec les polysaccharides gonococciques (*C. R. Sté de Biologie*, 1936, **121**, 1.578-1.579).
8. Beclere (Cl.). — Recherche systématique de la gonococcie féminine dans les consultations de gynécologie (*La Prophylaxie Antivén.*, 1947, **19**, 676-677).
9. Berge. — Etude sur le gonocoque et le diagnostic bactériologique de l'infection gonococcique (*Arch. Médecine et Pharm. Navale*, I. 1938, **128**, 21-91; II. 1938, **129**, 313-392).
10. Berthoud (P.). — De l'utilisation au cours du traitement de la blennorragie féminine de quelques épreuves de réactivation et plus particulièrement du test au gynergène (*Ann. Mal. Vén.*, 1939, **34**, 449-502).
11. Bonnefoi (A.), Grabar (J.), Le Minor (L.). — Vaccinothérapie et sérothérapie antigonococcique : I. Méthodes d'isolement et d'identification du gonocoque; II. Milieux de conservation (*Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 286).

12. Buck. — A transport medium for « Neisseria gonorrhoeae » (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1947, **28**, 6).

13. Cameron (G. M.), Castles (R.). — Techniques accentuating efficiency and speed in gonococcus culture work (*Amer. J. of Syph.*, 1946, **30**, 381).

14. Cantor (A.), Shelanski (H.), Willard (C.). — A microscopic alcali solubility test for the identification of gonococcus colonies (*J. of Bact.*, 1942, **45**, 237).

15. Carle, Lebeuf. — Quelques considérations cliniques et bactériologiques sur le gonocoque (*Ann. Mal. Vén.*, 1935, **30**, 881, 96).

16. Carpenter (C. M.), Leahy (A. D.), Wilson (K. M.). — Comparison of results of smear and cultural methods for diagnosis of gonococcal infections in adult females (*Amer. J. of Syph.*, 1938, **22**, 55-58).

17. Chauvet (R.). — Contribution à l'étude de la réactivation de la gonococcie féminine par le tartrate d'ergotamine (*Thèse de Marseille*, 1942).

18. Clements (P. A.), Hugues (K. E. A.). — The incidence of proctitis in gonorrhea of females (*The Lancet*, 1935, **2**, 18-19).

19. Cohn (A.). — Experiments on transportation of gonococcal pus for culture purposes (*Amer. J. of Syph.*, 1942, **26**, 598).

20. Coleman (M. B.). — An anusual strain of « Neisseria » isolated from the cervix uteri (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1946, **27**, 159-160).

21. Corbus (B. C.). — A skin test for the diagnosis of gonococcus infections (*J. of Urol.*, 1936, **35**, 112-125).

22. Davidson (H. H.), Shepard (M. C.). — Results of culture test among patients referred for gonorrhes treatment by hypospray (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1948, **29**, 332, in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 441).

23. Davouze (R.). — Contribution à l'étude de la gonoréaction de floculation à la gonacrine (*Thèse de Montpellier*, 1947),

24. Debray (J. R.), Le Minor (L.). — La culture du gonocoque dans le diagnostic de la blennorragie féminine (*J. d'Urologie*, 1948, **54**, 417-437).

25. Debray (J. R.), Le Minor (L.), Leca (J.). — Place de la culture du gonocoque dans le diagnostic et le traitement de l'urétrite blennorragique masculine (*J. d'Urologie*, 1949, **55**, 80-83).

26. Delvigne (M.). — Traitement de la blennorragie par la pénicilline. 1.000 cas traités. Contrôle bactériologique par la culture (*Revue Médicale de Liège*, 1946, **1**, 6-8).

27. Demilie (L.). — La réactivation au néo-gynergène dans les blennorragies féminines (*Le Scalpel*, 1948, **101**, 115-117).

28. Deroche (P.). — Recherche de l'infection gonococcique chez la femme enceinte (*Thèse de Paris*, 1939).

29. Durel (P.). — *Les métrites du col*, Masson édit., Paris, 1948.

30. Durel (P.), Siboulet (A.). — Les réactivations dans la blennorragie féminine. La réactivation au nitrate d'argent (*Revue Frse de Gynécologie*, 1945, **40**, 297-302).

31. Eagle (E.), Gude (A. V.), Beckman (G. E.), Mast (G.), Sapero (J. J.), Shindledecker (J. B.). — Prevention of gonorrhea with penicillin tablets. Preliminary report (*Public Health Report*, 1948, **63**, 1.411; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 438).

32. Eisenberg (H.), Easterly (M. E.). — Efficiency of penicillin in gonorrhea analysed by sampling method (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1948, **29**, 269, in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 440).

33. Engleson (H.), Engleson (G.). — Uber Kulturverfahren zur Diagnose der Gonorrhoe (*Acta Dermato-Venereologica*, 1940, **21**, 123-132).

34. Ferguson (W.). — Optimal carbon-dioxide tensions for primary isolation of gonococcus; response of organism to other gaseous environments (*Amer. J. of Syph.*, 1945, **29**, 19-55).

35. Figarella (J.), Donnet (V.). — Etude anatomo-clinique de la blennorragie génitale de la femme (*Revue Frse de Gynécologie*, 1938, 33, 238-281).

36. Gadrat (J.). — La séro-réaction blennorragique dans le liquide céphalo-rachidien (*Ann. Dermat. et Syph.*, 1934, 5, 576-596).

37. Giscard (J. B.). — Contribution au diagnostic de guérison de la blennorragie. Gonococcisme latent et culture du sperme (*Thèse de Toulouse*, 1923).

38. Glass (V.), Kenett (S. J.). — Effect of various forms of particulate carbon on growth of gonococcus and meningococcus (*J. of Path. and Bact.*, 1939, **49**, 125-133).

39. Gordon (J.), Mac Leod (J. W.). — Inhibition of bacterial growth by some amino-acids and its bearing on the use of tryptic digests as cultur media (*J. of Path. and Bact.*, 1926, **29**, 13-25).

40. Gordon (J.), Mac Leod (J. W.). — The practical application of the direct oxydase reaction in bacteriology (*J. of Path. and Bact.*, 1928, **31**, 185-190).

41. Gould (G.), Kane (L.), Mueller (H.). — On the growth requirements of « Neisseria gonorrhoeae (*J. of Bact.*, 1944, **47**, 287).

42. Hagerman (G.). — On the factors causing recurrence after penicillin treatment of gonorrhea (*Acta Dermato Venereologica*, 1948, **28**, 362-370).

43. Heathman (L. S.), Higginbotham (M.). — Culture examination for « N. gonorrhoeae ». Comparison of direct and shipped specimens for culture (*Amer. J. of Syph.*, 1942, **26**, 602).

44. Herrold (R. D.). — Altered environmental gonococcal forms and the probable mechanism of cure in gonorrhea (*Amer. J. of Syph.*, 1936, **20**, 614-622).

45. Higginbotham (M.). — Culture examination for « N. gonorrhoeae ». Comparison of chocolate agar with a cystine chocolate agar medium (*Amer. J. of Syph.*, 1942, **26**, 607).

46. Hill (J. H.). — Fundamental problems for laboratory research on « Neisseria gonorrhoeae » and gonococcal infection (*Amer. J. of Syph.*, 1948, **32**, 165-189).

47. Hirschberg (N.). — Bacteriologic follow-up of penicillin treated gonorrhea in women (*Amer. J. of Syph.*, 1948, **32**, 141-144; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 439).

48. Hirschberg (N.). — The use of a solid medium for the transportation of specimens for culture of the gonococcus (*J. of Bact.*, 1944, **47**, 458).

49. Hugues (R. P.), Carpenter (C. M.). — Alleged penicillin-resistant gonorrhea (*Amer. J. of Syph.*, 1948, **33**, 265-271; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 442).

50. Johnston (J.). — Reliability of 24 hours incubation for gonococcus cultures on ascitic fluid tyrothricin Difco chocolate agar (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1948, **29**, 208-211; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 433).

51. Johnston (J.). — Comparison of gonococcus cultures read at 24 and 48 hours (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1945, **26**, 239-241).

52. Kiesselbach (M. R.). — The use of culture test in the diagnosis of gonorrhea (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1948, **29**, 329; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 436).

53. King (A. J.), Gallagher (E.). — Gonorrhea in the female. Diagnosis and treatment (*The Lancet*, 1946, **250**, 916-919).

54. Koch (M. L.). — Pancreatic digest chocolate blood agar for the isolation of the gonococcus (*J. of Bact.*, 1948, **56**, 83; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 433).

55. Koch (M. L.). — Study of cervical cultures taken in cases of acute gonorrhea with special reference to phases of menstrual cycle (*Amer. J. Obst. and Gynec.*, 1947, **54**, 861-866).

56. Kolmer (J. A.). — *Approved laboratory technic*, 4e édit. 1945, page 435.

57. Konrad. — Zur Diagnose der weiblichen Gonorrhoe mit Hilfe des Kultur sverfahrens (*Klin. Woch.*, 1928, **7**, 594-598).

58. Lankford (C.), Scott (V.), Cox (M.), Cooke (W.). — Some aspects of nutritional variation of the gonococcus (*J. of Bact.*, 1943, **45**, 321).

59. Lankford (C.), Sneil (E.). — Glutamine as a growth factor for certain strains of « N. gonorrhoeae », *J. of Bact.*, 1943, **45**, 410).

60. Laughton (N.). — The bacteriological interpretations of vaginal smears (*J. of Hyg.*, 1948, **46**, 262-263; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 229).

61. Lawrynowicz (A.). — Observations sur la morphologie et la biologie des gonocoques (*C. R. Sté Biologie*, 1925, **93**, 789-790).

62. Le Minor (L.). — Techniques pratiques de culture du gonocoque (*Ann. Biologie clinique*, 1948, **6**, 321).

63. Le Minor (L.). — Préparation d'un antigène pour la pratique des gono-réactions (*Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **75**, 383).

64. Le Minor (L.). — Une modification du milieu de Peizer et Steffen pour l'isolement du gonocoque (*Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **75**, 381-382).

65. Le Soudier (M^lle^), Verge (J.). — Les formes atypiques du gonocoque. La vitalité du gonocoque (*C. R. Sté de Biologie*, 1925, **92**, 323-324).

66. Levine (P.), Fink. — Des formes involutives du gonocoque (*Ann. Mal. Vén.*, 1933, **28**, 890-909).

67. Ley (H.), Mueller (H.). — On the isolation from agar of an inhibitor for « Neisseria gonorrhoeae », *J. of Bact.*, 1946, **52**, 453).

68. Lundsteen (A.), Reymann (F.). — Studies on the sensibility of gonococci to penicillin and sulfathiazole *in vitro* (*Acta Path. et Microb. Scand.*, 1946, **23**, 379).

69. Mac Leod, Coates, Happold, Priestley, Weatley. — Cultivation of the gonococcus as a method in the diagnosis of gonorrhea with special reference to the oxydase reaction and to the value of air renforced in its carbon dioxyde content (*J. of Path. and Bact.*, 1934, **39**, 221-231).

70. Marcel (J. E.). — Conclusions de la commission d'études pour la recherche d'un critérium de guérison de la blennorragie chez la femme (*Revue Frse de Gynécologie*, 1932, **27**, 538).

71. Mascall (N.). — Le traitement de la blennorragie par la pénicilline chez la femme (*The Lancet*, 16.11.1946, n° 6.429, 712-714).

72. Mayer (M.), Delayre (M^lle^) et Lanvin (M.). — Les métrites cervicales gonococciques au cours de la puerpéralité (*Presse Médicale*, 1947, **55**, 554-555).

73. Moffett (M.), Young (J. L.) et Stuart (R. D.). — Centralized gonococcus culture for dispersed clinics (*Brit. Med. J.*, n° 4.573, 28-8-1948; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 437).

74. Morel (F.), Bernier (G.). — Microbiologie clinique moderne du gonocoque et des gonococcies (*L'urologie et les maladies vénériennes*, 1948, **1**, 157-175).

75. Morton (H. E.). — On the amount of carbon dioxyde supplied for the primary isolation of « Neisseria gonorrhoeae » (*J. of Bact.*, 1945, **50**, 589).

76. Morton (H. E.), Schoemaker (J.). — The identification of « Neisseria gonorrhoeae » by means of bacterial variation and the detection of small colony forms in clinical material (*J. of Bact.*, 1945, **50**, 585).

77. Mueller (A. M.), Nell (E. E.). — A comparison of twenty-four hour and forty-eight hour readings of routine gonococcus cultures (*Amer. J. of Syph.*, 1948, **32**, 139-140; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1947, **47**, 433).

78. Neumann (H.). — Eine neue Gonokokkenkulturmethode (*Dermat. Woch.*, 1935, **101**, 883-890; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1937, **35**, 174).

79. Neumann (H.). — Neue Züchungsmethode für Gonokokken und Meningokokken (*Klin. Woch.*, 1936, **15**, 58; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1937, **35**, 175).

80. Nicol (C. S.). — Some aspects of gonorrhea in the female with speciale reference to infection of the rectum (*Brit. J. of Vener. Dis.*, 1948, **24**, 26-39).

81. Parkhurst (G. E.), Harb (F. W.), Cannefax (G. R.). — Penicillin-resistant gonorrhea vs non specific uretritis (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1947, **28**, 211-214; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 443).

82. Patiala (R.). — L'emploi des méthodes d'irritation pour la constatation de la guérison de la blennorragie (*Acta Dermato-Venereologica*, 1946, **26**, 557-560).

83. Peizer (L. R.). — A method of employing horse plasma and hemoglobin as enrichments in primary gonococcus isolations (*J. Lab. and Clin. Med.*, 1939, **25**, 299-303).

84. Peizer (L. R.), Steffen (G. I.). — Nile blue A in horse plasma hemoglobin agar for culture of gonococcus (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1942, **23**, 224).

85. Peizer (L. R.), Steffen (G. I.). — Improved method of transportation of material from gonococcal infections (*J. Lab. and Clin. Med.*, 1943, **28**, 1.121).

86. Peizer (L. R.), Steffen (G. I.). — A comparison of the efficiency of three common methods of transportation of gonorrheal specimens (*J. Vener. Dis. Inform.*, 1947, **28**, 218-221 ; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 436).

87. Putkonen (T.). — On the desintegration of gonococci during penicillin treatment (*Acta Dermato-Venereologica*, 1948, **28**, 387-391).

88. Reme (B.). — La séro-réaction blennorragique (*Thèse de Toulouse*, 1934).

89. Reyn (A.). — Atypical gonococcal strains (*Acta Dermato-Venereologica*, 1948, **28**, 381-386).

90. Rosenblatt (P.), Meyer (E.), Robins (L.) — Statistical studies in female gonorrhea with evaluation of yeast supplement in gonococcus isolations (*Amer. J. of Syph.*, 1944, **28**, 634-638).

91. Sartory (A.), Meyer (J.), Sauter (M^lle). — L'influence des facteurs activants spécifiques contenus dans les filtrats de champignons inférieurs sur la croissance du micrococcus gonorrhoe (*Bulletin Académie de Médecine*, 1935, **114**, 134-138).

92. Scartozzi (C.). — Azione del pH del terreno culturale sullo sviluppo della « Neisseria gonorrhoeae » (*Giorn. Batt. e Imm.*, 1935, **15**, 934 ; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1937, **35**, 174).

93. Schubert (J. H.), Bucca (M. A.), Thayer (J. O.). — A study of preinoculation and preincubation factors in the primary isolation of « Neisseria gonorrhoeae » (*J. Ven. Dis. Inform.*, 1947, **28**, 214-217; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 435).

94. Sohrab (H.). — Contribution à l'étude du gonocoque (*Thèse de Paris*, 1937).

95. Stokinger (H.), Ackerman (H.), Carpenter (C.). — The use of tyrothricin in culture media as an aid in the isolation of « Neisseria gonorrhoeae » (*J. of Bact.*, 1943, **45**, 31).

96. Sylvestre (L.), Beauregard (J. M.). — La culture en blennorragie moyen essentiel de diagnostic (*Union Médicale du Canada*, 1946, **74**, 1.045-1.050).

97. Tempe. — Les facteurs accessoires de la croissance dans la culture du gonocoque (*Thèse Strasbourg*, 1926).

98. Thayer (J.), Bucca (M.), Kirty (R.). — An analysis of Weckstein's rapid method for primary identification of the gonococcus (*J. of Bact.*, 1947, **54**, 71).

99. Thayer (J.), Schubert (J.), Bucca (M.). — The evaluation of culture mediums for the routine isolation of the gonococcus. Observation in the direct oxydase test as applied to gonococcic colonies grown in certain mediums (*J. Ven. Dis. Inform.*, 1947, **28**, 37-40).

100. Torres (A. L.). — Peizer's medium. Cultural method for gonorrhea diagnosis (*Arquiv. Inst. Biol. Exercito*, 1947; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 435).

101. Trowbridge (M.), Mac Conkey (R. M.). — Value and short comings of cultural method in diagnosis of gonorrhea with special reference to use of Peizer medium (*War Med.*, 1944, **5**, 36-42).

102. Uroma (E.). — L'apparition des gonocoques à la culture est-elle gênée par une médication antérieure de sulfonamide (*Ann. Med. Int. Fenniae*, 1946, **35**, 89-94).

103. Vera (H. D.). — A simple medium for identification and maintenance of the gonococcus and other bacteria (*J. of Bact.*, 1948, **55**, 531-536; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1949, **47**, 432).

104. Weber (N. A.). — Use of liver extracts as an enrichment factor for the growth of gonococci (*J. of Bact.*, 1944, **47**, 399).

105. Weller (T. H.), Williams (J. E.). — Comparative study for the primary isolation of the gonococcus (*Amer. J. of Syph.*, 1946, **30**, 386).

106. Welton (J.), Scherp (H.). — Further observations on the nutritional requirements of « Neisseria gonorrhoeae » (*J. of Bact.*, 1944, **47**, 432).

107. Welton (J.), Stokinger (H.), Carpenter (C. M.). — A chemically defined medium for the cultivation of the gonococcus (*Science*, 1944, **99**, 372).

Table des Matières

INTRODUCTION 13

PREMIERE PARTIE : *Etude Bactériologique du gonocoque.* .

CHAPITRE I.

Morphologie-Coloration 17
Constitution biochimique 22

CHAPITRE II. — *Culture* 23
I. — Les milieux de culture 23
Les milieux classiques de base .. 24
Les milieux modernes 28
Les facteurs de croissance 32
Milieux sélectifs 34
Milieux de transport 37
II. — Conditions physiques 40
Conditions physiques des milieux 40
Conditions d'incubation 41

CHAPITRE III. — *Propriétés* 44
I. — Propriétés biochimiques 44
Fermentation des sucres 44
Réaction d'oxydase 46
II. — Propriétés antigéniques 50

CHAPITRE IV. — *Travail personnel* 53
La culture du gonocoque 53
La réaction d'oxydase 57
Résultats 61

DEUXIEME PARTIE : *La Culture du gonocoque dans la blennorragie féminine* 65

CHAPITRE I. — *Les méthodes habituelles de diagnostic* 67
L'examen clinique 67
L'examen des frottis 75
Les méthodes indirectes 83
Les renseignements épidémiologiques... 87

CHAPITRE II. — Le diagnostic par la culture . 90
Techniques de prélèvement 90
Imperfections de la méthode 91
Résultats 94

CHAPITRE III. — *Travail personnel* 98
Résultats d'ensemble 99
Résultats spéciaux 101
Comparaison entre la clinique et la bactériologie 103

CONCLUSIONS 107

BIBLIOGRAPHIE 109

Impr. P. JULIA, 2, rue Temponières — Toulouse